Untersuchungen über den renalen Aminosäurentransport beim Lamm

Christian Landes

1975

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551907_0082

Aus dem Institut für Physiologie, physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie im Fachbereich Tiermedizin
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. Dieter Giesecke
Angefertigt unter der Leitung von Priv.-Doz. Dr. E. Scharrer

Untersuchungen über den renalen Aminosäurentransport beim Lamm

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von
Christian Landes
aus Lautenbach

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent:	Priv.-Doz. Dr. E. Scharrer
Korreferent:	Prof. Dr. D. Hegner

Tag der Promotion: 21. Februar 1975

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meiner Mutter

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

EINLEITUNG 1

LITERATUR

1. Der aktive renale Aminosäurentransport 2
2. Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren und anderen Molekülen beim renalen Transport 7
3. Transportsysteme für Aminosäuren in der Niere 10
4. Altersabhängigkeit des renalen Aminosäurentransports 14
5. Einfluß von Hormonen auf den renalen Aminosäurentransport 16

METHODISCHER TEIL

1. Tiermaterial 18
2. Fütterung der Versuchstiere 19
3. Versuchsablauf
   a. Versuchstechnik 21
   b. Messung der Radioaktivität 23
   c. Auswertung der Meßergebnisse 23
4. Statistik 26

ERGEBNISSE

1. Altersabhängigkeit der AIB-[1]Akkumulation in Nierenrindenschnitten 27
2. Beeinflussung der Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen durch die Vormagenentwicklung 27
3. Efflux von AIB aus Nierenrindenschnitten bei Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung 30
4. Einfluß verschiedener Hormone auf die Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen
   a. Beeinflussung der AIB-Akkumulation durch Cortison 33
   b. Beeinflussung der AIB-Akkumulation durch Insulin und Glucagon 33

[1] =α-Aminoisobuttersäure

5. Beeinflussung der Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen durch Adenosin-3¦5-monophosphat 37

6. Einfluß von Zuckern auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen 38

7. Einfluß von Pyruvat auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen 41

8. Einfluß der Na^+-Konzentration im Inkubationsmedium auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen 41

9. Konzentrationsabhängigkeit der renalen AIB-Aufnahme 41

10. Abhängigkeit des Extrazellulärraums der Nierenrindenschnitte von Alter und Vormagenentwicklung beim Lamm 47

DISKUSSION 48

ZUSAMMENFASSUNG 54

LITERATURVERZEICHNIS 58

EINLEITUNG

Aminosäuren werden vom Epithel des proximalen Nierentubulus aktiv, d. h. gegen ein Konzentrationsgefälle aus dem Primärharn rückresorbiert. Bei diesem Prozeß kommt es zu einer Akkumulation von Aminosäuren im Tubulusepithel, da die Aminosäuren über aktive Transportmechanismen durch die lumenzugewandte Membran des Tubulusepithels in die Tubuluszelle aufgenommen werden, um dann "bergab" durch die lumenabgewandte Membran des Tubulusepithels in das Interstitium überzutreten.

Untersuchungen über die Ontogenese des renalen Aminosäurentransports sind nur spärlich belegt (6, 7, 134, 155, 157). Insbesondere liegen entsprechende Untersuchungen bei landwirtschaftlichen Nutztieren nicht vor. Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist daher die postnatale Entwicklung des renalen Aminosäurentransports beim Lamm. Zusätzlich wurde geprüft, ob der renale Aminosäurentransport einer hormonellen Steuerung unterliegt, da der Aminosäurentransport in verschiedenen anderen Geweben, wie z. B. in der Leber und der quergestreiften Muskulatur, durch bestimmte Hormone reguliert wird.

Die Untersuchungen wurden in vitro an Nierenrindenschnitten durchgeführt.

Als Modellaminosäure diente die nicht metabolisierbare Aminosäure α-Aminoisobuttersäure (= AIB).

LITERATUR

1. Der aktive renale Aminosäurentransport

Seit Jahrzehnten schon ist man bemüht, die Natur der Reabsorptionsvorgänge über das Tubulusepithel in der Niere aufzuklären. Bereits 1917 beschäftigte sich Cushny in seiner Abhandlung "The secretion of urine" (35) mit dem unterschiedlichen Anteil der Aminosäuren am Gesamt-Nicht-Protein-Stickstoff von Plasma und Urin. Aber erst mit den Untersuchungen von Kirk (79) erfahren die Studien über die Nierenfunktion den entscheidenden Durchbruch. Er hatte festgestellt, daß die Konzentration freier Aminosäuren im Urin geringer ist als im Plasma und daraus geschlossen, daß die Aminosäuren in den renalen Tubuli gegen ein Konzentrationsgefälle reabsorbiert würden.

Die Annahme, daß in den Tubuluszellen tatsächlich ein aktiver Reabsorptionsprozeß stattfindet, wurde in Stop-Flow-Untersuchungen (20, 57, 59, 111, 163, 164) erhärtet. Das Clearance-Verhältnis von Aminosäuren zu Inulin bzw. Kreatinin im proximalen Tubulus fiel nämlich in diesen Versuchen auf Werte < 1 ab. Dieser Befund weist auf eine Reabsorption gegen ein Konzentrationsgefälle hin.

Bei der Inkubation von Nierenrindenschnitten, die hauptsächlich aus Zellen des proximalen Tubulus bestehen (106), in aminosäurenhaltigem Medium fand man eine intrazelluläre Akkumulation der betreffenden Aminosäuren (18, 19, 53, 95, 96, 105, 106). Diese Technik läßt die verschiedensten Versuchsvariationen zu, vor allem die Untersuchung von Stoffwechseleinflüssen auf den Transport von Aminosäuren (101, 118, 135, 159). Auch das Phänomen der Austauschdiffusion konnte an Nierenrindenschnitten dargestellt werden (117, 118). Die intrazelluläre Akkumulation einer Aminosäure war nämlich erhöht, wenn die Schnitte mit derselben Aminosäure (Autoaustauschdiffusion) oder einer anderen Aminosäure (Heteroaustauschdiffusion) vorinkubiert worden waren.

Die Austauschdiffusion trat nur bei dibasischen, nicht dagegen bei neutralen Aminosäuren auf.
Man kann allerdings bei Transportstudien an Nierenrindenschnitten nicht ausschließen, daß die intrazelluläre Substrat-Akkumulation z. T. über die antiluminale Membran stattfindet (51).
Die zitierten Untersuchungen machen deutlich, daß Aminosäuren in den Zellen des proximalen Nierentubulus aktiv transportiert werden. Zu einer intrazellulären Akkumulation von Aminosäuren sind jedoch auch andere Nierenbereiche fähig (56, 86). Doch der Ort der renalen Aminosäurenreabsorption scheint tatsächlich im proximalen Tubulus zu liegen, denn in Mikropunktions- und Mikroperfusionsstudien wurde nach der Injektion radioaktiv markierter Aminosäuren in das Lumen proximaler Nierentubuli eine erhöhte Radioaktivität in den Zellen des proximalen Tubulus gemessen (10, 11). Andere Autoren fanden in Mikroperfusionsstudien, daß L-Histidin und Glycin im proximalen Tubulus quantitativ reabsorbiert werden (28 54, 140). Schließlich zeigten Hillman und Rosenberg, daß isolierte Bürstensaumfraktionen des proximalen Nierentubulus in der Lage sind, Aminosäuren spezifisch zu binden (69). Auch dieser Befund steht mit der Annahme im Einklang, daß Aminosäuren im proximalen Tubulus reabsorbiert werden, denn nur die Zellen dieses Abschnittes der Niere weisen einen Bürstensaum auf.
Obwohl der aktive renale Aminosäurentransport noch in zahlreichen weiteren Arbeiten beschrieben wurde - auch Untersuchungen mit isolierten Tubulussegmenten (21, 66, 67, 68, 76) zeigen eine Akkumulation von Aminosäuren in den Tubuluszellen - konnte der Transportmechanismus noch nicht geklärt werden. Immerhin weist er einige charakteristische, allgemein anerkannte Merkmale auf. So wird als gesichert angesehen, daß es sich um einen aktiven Transportprozeß handelt. Darüberhinaus setzt man die Existenz eines Carriers in der lumenzugesandten Membran voraus. Segal z. B. bezieht

in sein Membranmodell einen Carrier ein (130). In seiner Darstellung des transmembranalen, Carrier-vermittelten Transports geht Segal davon aus, daß das Aminosäurentransportsystem der Tubuluszelle die Fähigkeit besitzt, einen Konzentrationsgradienten aufrechtzuerhalten. Der Carrier, der sich in der Zellmembran befindet, hat dabei die Aufgabe, die Aminosäuren durch die Membran ins Innere der Zelle gegen ein Konzentrationsgefälle zu transferieren. Die intrazelluläre Akkumulation der Aminosäuren wird durch eine Assymetrie der Membranprozesse hervorgerufen, die darin besteht, daß die Aminosäuren leichter in die Zelle eindringen als aus ihr austreten können. Dies bedeutet, daß die Aminosäurenkonzentration in den Zellen höher ist als im Inkubationsmedium (53, 95, 96, 105, 106, 139) oder im Plasma bzw. glomulären Filtrat (64). Die Na^+-Abhängigkeit des renalen Aminosäurentransports gibt zu der Vermutung Anlaß, daß die Ausführungen von Crane über den Mechanismus des intestinalen Zuckertransports (31, 32) möglicherweise auch auf den renalen Aminosäurentransport zutreffen (s. S. 8).

Die Identifizierung des Carriers stößt allerdings noch auf Schwierigkeiten. Man kann indessen die Tatsache, daß die Akkumulation von Aminosäuren in Nierenrindenschnitten von Puromycin, einem Hemmer der Proteinsynthese (44), gehemmt wird, als Hinweis auf den Proteincharakter des Carriers deuten (45). Überlegungen, daß Phosphatidylpeptide beim renalen Aminosäurentransport eine Rolle spielen könnten, haben sich allerdings nicht bestätigt (119). Diesbezügliche Untersuchungen zeigten nämlich, daß sich die Bildungskinetik dieser Peptide mit den Transporteigenschaften der Nierenrindenzelle nicht in Einklang befindet. Dagegeben haben verschiedene Autoren übereinstimmend eine bemerkenswerte Stabilität des Carriers bei niedriger Temperatur beschrieben (85, 138). Danach behalten Nierenrindenschnitte selbst nach 48 - 72-stündiger Lagerung bei 4° C unverändert die Fähigkeit, Aminosäuren zu akkumulieren.

Vielversprechend sind auch Untersuchungen über den renalen Aminosäuren-Carrier an isolierten Bürstensaumfraktionen (69). Diese Membranfragmente sind nämlich in der Lage, Aminosäuren spezifisch zu binden. Dabei handelt es sich um einen sättigungsfähigen, hemmbaren Prozeß. Schließlich wird die Carrierhypothese auch von dem Phänomen der Austauschdiffusion unterstützt, die experimentell am besten an Ehrlich-Aszites-Zellen dargestellt wurde (63, 73), jedoch auch in Nierenrindenschnitten auftritt (117).

Baerlocher beschreibt in seiner Abhandlung "Developmental aspects of amino acid transport" mehrere funktionelle Schritte für den Transfer von Aminosäuren durch die Zellmembran (5). Nach der "Erkennung" und "Bindung" durch den Carrier erfolgt die "Translokation" des Carrier-Substratkomplexes durch die Membran. Dabei wird Energie benötigt, um den freien Carrier an der Eintrittsstelle der gelösten Aminosäure in seine aktive Form zu überführen. In diese Folge funktioneller Schritte fügt sich eine Anzahl enzymatischer Reaktionen, die unter dem Begriff γ-Glutamyl-Zyklus zusammengefaßt werden (89). Unter Mitwirkung dieses Zyklus' scheint der transmembranale Transport verschiedener neutraler Aminosäuren in der Niere vonstatten zu gehen. Nach einmaligem Ablauf dieser Reaktionsfolge, durch die die Aminosäuren in die Zelle transferiert werden, ist der Zyklus geschlossen.

Bei Untersuchungen der Aminosäurenakkumulation in Nierenrindenzellen ergab sich eine Abhängigkeit des Transports von der Substratkonzentration, die den Gesetzen der Michaelis-Menten-Kinetik folgt (106, 108). Scriver und Mohyuddin (125) untersuchten den Transport von α-Aminoisobuttersäure (AIB) an Nierenrindenschnitten von Ratten in Abhängigkeit von der AIB-Konzentration des Inkubationsmediums. Sie konnten unter diesen Bedingungen zeigen, daß AIB von zwei verschiedenen Systemen transportiert wird, die sich deutlich in ihrer Michaelis-Konstante unterschei-

den. Dabei verhält sich das System mit hoher Michaelis-Konstante unspezifischer als das System mit niedriger Michaelis-Konstante. Für Prolin (68, 93) und Glycin (67) wurdenan isolierten Tubuli von Kaninchen dieselben heterogenen Transportsysteme gefunden. Beim Menschen ließ sich dieses Phänomen für Lysin (104) und Cystein (131), jedoch nicht für Cystin (104) nachweisen. Wenn auch vieles für die Existenz multipler Transportsysteme spricht, läßt sich die Möglichkeit nicht ganz ausschließen, daß es sich nur um ein System mit einer einzigen Bindungsstelle handelt, wobei jedoch mit ansteigender Substratkonzentration eine allosterische Veränderung im Carrier vor sich geht, die den Anstieg der Michaelis-Konstanten erklären könnte (138 a). Diese Hypothese stimmt eher mit dem Membranmodell von Singer und Nickolson überein (141).
Verschiedene Untersuchungen haben ergeben, daß die Niere in der Lage ist, zwischen stereoisomeren Aminosäuren zu unterscheiden. Es hat den Anschein, daß L-Isomere im Vergleich zur entsprechenden D-Form in der Niere schneller reabsorbiert werden (30). Allerdings ist zweifelhaft, ob die D-Form allein durch passive Diffusion reabsorbiert wird (151), wie man ursprünglich annahm (30).

2. Wechselwirkung zwischen Aminosäuren und anderen Molekülen beim renalen Transport

Die Akkumulation von Aminosäuren in den Tubuluszellen der Niere wird stark von der Ionenzusammensetzung der extrazellulären Flüssigkeit beeinflußt. Wenn man den Na^+-Anteil des Inkubationsmediums durch andere Ionen (Lithium, Kalium, Tris) ersetzt, sind Nierenrindenschnitte zur intrazellulären Akkumulation von AIB, Glycin oder Cystin nicht mehr fähig (53, 136). Dagegen werden die dibasischen Aminosäuren auch in Abwesenheit von Na^+ noch in merklichem Umfang intrazellulär akkumuliert (53, 136). Ouabain, ein Hemmer der Na-K-ATPase (48), beeinträchtigt die intrazelluläre Akkumulation neutraler Aminosäuren in Nierenrindenschnitten von Ratten weniger als die Abwesenheit von Na^+ (53). Die Akkumulation von Lysin scheint dagegen durch den Zusatz von Ouabain zum Inkubationsmedium und in Na^+-freiem Medium gleichermaßen gehemmt zu werden (53). Andere Autoren berichten allerdings, daß der renale Transport von Lysin und Arginin in Na^+-freiem Medium nicht gehemmt wird (116, 117). Es gibt sogar Untersuchungen, bei denen der renale Lysintransport bei Inkubation von Nierenrindenschnitten in Na^+-freiem Medium erhöht war (137).
Die Na^+-Abhängigkeit scheint sich sowohl auf die renalen Aminosäurentransportsysteme mit hohen als auch mit niedrigen K_m-Werten zu erstrecken (53). Allerdings dürfte das letztgenannte Transportsystem stärker betroffen sein (25). Kinetische Analysen (146) führten weiter zu der Feststellung, daß bei verringertem Na^+-Gehalt des Inkubationsmediums (72 mÄq/l) vor allem der Aminosäureninflux in die Tubuluszelle gehemmt wird. Die Tatsache, daß bei Verwendung von Na^+-freiem Medium keine Akkumulation von Aminosäuren mehr stattfindet, ist indessen darüberhinaus auch auf eine Beschleunigung des Aminosäureneffluxes zurückzuführen (146). Auch die bereits erwähnte Austauschdiffusion von dibasischen Aminosäuren ist Na^+-abhängig (118).

Der Mechanismus der Wechselbeziehungen zwischen Na^+ und renalem Aminosäurentransport ist noch nicht geklärt. Transportstudien an isolierten Tubuli und Bürstensäumen haben erbracht, daß Aminosäuren beim renalen Transport zunächst an den Bürstensaum der Tubuluszelle gebunden werden und erst im Anschluß daran aktiv durch die Bürstensaummembran transportiert werden (66, 69), wobei vor allem der zweite Schritt von der Na^+-Konzentration des Inkubationsmediums abhängig ist (69). Möglicherweise trifft auf diese Vorgänge dieselbe Erklärung zu, die man für die Wechselbeziehungen zwischen Na^+ und intestinalem Zucker- bzw. Aminosäurentransport (31, 32, 107, 114, 115) zur Diskussion stellte. Man nimmt in diesem Fall nämlich an, daß Na^+ und die betreffende Aminosäure mit dem Carrier einen dreiteiligen Komplex bilden, und daß der Carrier sowohl Na^+ als auch Aminosäuren durch die Membran translociert.

Die Auswirkungen verschiedener Kaliumkonzentrationen des Inkubationsmediums auf den renalen Aminosäurentransport von Nierenrindenschnitten der Ratte untersuchte man ebenfalls (53), wobei sich für verschiedene Aminosäuren ein Transportoptimum bei einer Kaliumkonzentration zwischen 8 und 12 mÄq/l ergab.
Der Effekt von Ca^{2+} und Mg^{2+} auf den Aminosäurentransport der Nierentubuluszellen ist unterschiedlich. In Nierenrindenschnitten von Spargue-Dawley-Ratten wurde die intrazelluläre AIB-Akkumulation durch diese Ionen nicht beeinflußt (53). Dagegen fanden Brown und Michael, die mit Simonson-Ratten arbeiteten, einen verminderten Transport von AIB, wenn Ca^{2+} oder Mg^{2+} nicht im Inkubationsmedium vorhanden waren (18, 19).

Schon seit langem ist das gemeinsame Auftreten einer Aminoacidurie und einer Glucosurie beim Fanconi-Syndrom (14, 49, 50, 83, 113) bekannt. Bei Zuckerkranken (Diabetes mellitus) tritt der gleiche Befund auf (149). In Anbetracht dessen erwartete man auch Wechselwirkungen zwischen Zuckern und Aminosäuren bezüglich des renalen Transports. Clearance-

Untersuchungen bestätigten diese Vermutung. Die Reabsorption von Aminosäuren in den Nierentubuli war nach Glucoseinfusionen beeinträchtigt (43). Denselben Effekt auf die renale Aminosäurenreabsorption hatte Phlorizin (152), das den Glucosetransport kompetitiv hemmt (40). Umgekehrt übten manche Aminosäuren eine depressive Wirkung auf den renalen Glucosetransport aus (158).
Auch Untersuchungen an Nierenrindenschnitten zeigten, daß eine Wechselwirkung zwischen dem renalen Aminosäuren- und Zuckertransport besteht. Thier und Mitarbeiter (139, 147) prüften den Effekt verschiedener Zucker (Hexosen, Pentosen, Disaccharide) auf den Aminosäurentransport und stellten fest, daß die intrazelluläre Akkumulation einiger neutraler Aminosäuren in Gegenwart von Glucose, Galactose und Fructose gehemmt war. Kinetische Analysen ergaben, daß der Influx der Aminosäuren in die Zelle reduziert war. Eine Anzahl anderer Zucker, wie z. B. 2-Desoxy-D-Glucose, beeinflußten dagegen den renalen Aminosäurentransport bei der Ratte nicht (101, 139). Genel und Mitarbeiter (58) zeigten, daß die intrazelluläre Akkumulation von Aminosäuren in Nierenrindenschnitten von Ratten auch von α-Methyl-D-Glucosid, einem nicht metabolisierbaren Zucker, beeinträchtigt wird; dabei handelt es sich um eine nicht kompetitive Hemmung, die auch in Gegenwart nicht metabolisierbarer Aminosäuren bei der intrazellulären Akkumulation von α-Methyl-D-Glucosid auftrat.
Im jugendlichen Organismus scheinen allerdings beträchtliche Unterschiede zwischen beiden Transportsystemen zu bestehen. Während die Akkumulation von Aminosäuren in den Zellen des proximalen Nierentubulus neugeborener Spargue-Dawley-Ratten nämlich gegen ein Konzentrationsgefälle stattfindet, wird α-Methyl-D-Glucosid zu diesem Zeitpunkt nicht aktiv transportiert (134).
Die Ursache der gegenseitigen, nicht kompetitiven Transporthemmung von Monosacchariden und Aminosäuren im proximalen Nierentubulus könnte ähnlich wie im Dünndarm auf einer Konkurrenz um die gleiche Energiequelle oder auf einer allosterischen Interaktion zwischen dem Zucker- und Aminosäurencarrier beruhen (1, 5, 102).

3. Transportsysteme für Aminosäuren in der Niere

Die strukturellen Unterschiede zwischen einzelnen Aminosäuren sind so groß, daß die Existenz verschiedener Transportsysteme für Aminosäuren in der Niere nicht überrascht. Erste Clearance-Untersuchungen deuteten darauf hin, daß die Reabsorption aller Aminosäuren einer wechselseitigen kompetitiven Hemmung unterliegt (99, 100). Doch schon bald gelang es, verschiedene Reabsorptionsmechanismen aufzuzeigen (12, 13, 161). Kamin und Handler (78) vertraten die Meinung, daß das Vorhandensein verschiedener Reabsorptionsmechanismen mit der unterschiedlichen Acidität der einzelnen Aminosäuren zusammenhängt. Ihre Clearance-Messungen für Aminosäuren ließen eine Aufteilung der Reabsorptionsvorgänge in verschiedene Mechanismen für neutrale, dibasische und saure Aminosäuren zu. Die Überlappung der einzelnen Systeme war jedoch sehr groß, so daß die Einteilung noch nicht gesichert schien. Doch Pitts, Webber und Mitarbeiter (150, 151, 156) bestätigten einige Jahre später die Existenz der genannten Reabsorptionsmechanismen.

Das Transportsystem für neutrale Aminosäuren

Es ist bekannt, daß die Hartnup'sche Krankheit, eine seltene, rezessiv vererbliche Erkrankung des Menschen, mit einem Defekt des renalen Transports neutraler Aminosäuren einhergeht (3, 36, 46, 75, 91, 120). Für die auftretende Aminoacidurie ist die erhöhte Ausscheidung neutraler Aminosäuren charakteristisch. Diese Tatsache spricht für ein separates renales Transportsystem für neutrale Aminosäuren. Erhärtet wird dieser Befund dadurch, daß sich neutrale Aminosäuren bei der renalen Reabsorption wechselseitig kompetitiv hemmen (11, 13, 150, 156).
Auch zwei synthetische Aminosäuren, nämlich α-Aminoisobuttersäure (AIB) und α-Methyldopa, werden von diesem Transportsystem befördert (27, 153, 163).

Das Transportsystem für dibasische Aminosäuren

Die Diaminomonocarbonsäuren Lysin, Arginin und Ornithin sowie Cystin scheinen von einem gemeinsamen renalen Transportsystem reabsorbiert zu werden. Den ersten Hinweis darauf ergaben Untersuchungen an Patienten, die an Cystinurie litten. Diese Erkrankung ist zum Teil durch eine hohe Ausscheidung von Cystin und dibasischen Aminosäuren gekennzeichnet (2, 38, 39, 62, 143, 148, 162). Möglicherweise ist das angeführte Transportsystem weiter unterteilt, denn es wurde auch eine Cystinurie ohne gleichzeitige Ausscheidung von Diaminosäuren im Harn beschrieben (16 a). Reziproke Verhältnisse wurden ebenfalls festgestellt (160).
Auch an Nierenrindenschnitten von Ratten beobachtete man in vitro eine wechselseitige kompetitive Hemmung der dibasischen Aminosäuren hinsichtlich des renalen Transports (108). Eine gegenseitige Beeinflussung der intrazellulären Akkumulation von Cystin und Diaminomonocarbonsäuren trat jedoch nicht auf. Auch Untersuchungen an Nierenrindenschnitten von gesunden bzw. an Cystinurie leidenden Personen ergaben keine Wechselwirkung zwischen dem renalen Transport von Cystin und dibasischen Aminosäuren (52). Segal (130) wies an Nierenrindenschnitten von "cystinurischen" Patienten zwar einen Defekt des Lysin- und Argininintransportes, nicht jedoch des Cystintransportes nach. Bei entsprechenden Arbeiten an "cystinurischen" Hunden (70, 71) ergab sich ein ähnliches Bild.
In eingehenden Studien über den Transport von dibasischen Aminosäuren an Nierenrindenschnitten von Ratten zeigten Schwartzman und Mitarbeiter (117, 118), daß sowohl eine Auto- als auch eine Heteroaustauschdiffusion stattfand. Cystin und Cystein waren dagegen nicht an diesem Austauschtransport beteiligt (117). Diese Austauschdiffusion zwischen den dibasischen Aminosäuren war mehr als der aktive Transport dieser Aminosäuren durch Stoffwechselinhibitoren und Na^+-Entzug beeinflußbar. Zudem war die Abhängigkeit der gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgenden Akkumulation von Lysin und Arginin von der extra-

zellulären Na^+-Konzentration im Gegensatz zur Cystinakkumulation absolut (135, 136). Darüber hinaus bestehen bezüglich der Ontogenese des renalen Transports der dibasischen Aminosäuren und des Cystins deutliche Unterschiede (137). Untersuchungen von Crawhall und Segal an Nierenrindenschnitten ergaben, daß Cystin nach dem Übertritt in das Tubulusepithel in Cystein umgewandelt wird (33, 34). Schwartzman und Mitarbeiter (116) fanden schließlich die Ursache für die Wechselwirkung zwischen dibasischen Aminosäuren und Cystin; sie registrierten nämlich einen reduzierten Efflux von Cystein aus der Zelle in Gegenwart dibasischer Aminosäuren. Die Autoren folgerten daraus, daß für Diaminomonocarbonsäuren und Cystin zwar unterschiedliche Influxsysteme, aber ein gemeinsamer Effluxmechanismus vorliegen.

Das Transportsystem für saure Aminosäuren

Verschiedene Untersuchungen haben übereinstimmend ergeben, daß sich die zwei Monoaminodicarbonsäuren Glutaminsäure und Asparaginsäure bei der renalen Reabsorption gegenseitig hemmen, was auf ein gemeinsames Transportsystem schließen läßt (111, 150). Dagegen wird der renale Transport dieser beiden Aminosäuren durch verschiedene neutrale Aminosäuren nur leicht gehemmt (151). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß es auch für die sauren Aminosäuren ein eigenes Transportsystem gibt.

Das Transportsystem für Iminosäuren und Glycin

Das Phänomen der Iminoglycinurie wurde zum ersten Mal von Joseph (77) beschrieben. Eingehende Untersuchungen darüber veröffentlichten Scriver und Mitarbeiter (121, 123, 127, 129). Die Ausscheidung der Iminosäuren Prolin und Hydroxyprolin sowie der neutralen Aminosäure Glycin ist in diesem Fall erhöht. Diese Befunde gaben zu der Vermutung Anlaß, daß für die Iminosäuren und Glycin ein gemeinsames renales Transportsystem existiert. Allerdings handelt es sich dabei wohl um multiple Transportwege. Der Einfluß anderer neutraler Aminosäuren auf die Iminosäuren-Glycin-Gruppe

wurde von verschiedenen Autoren untersucht, die zu unterschiedlichen Ergebnissen gelangten. In den Untersuchungen von Scriver und Mitarbeitern (123, 124) wurde die Reabsorption der Iminosäuren durch neutrale Aminosäuren nicht beeinflußt, während die Reabsorption von Glycin durch andere neutrale Aminosäuren nur unbedeutend gehemmt wurde. Webber (150) dagegen wies bei Verwendung der gleichen Aminosäuren eine Hemmung der Reabsorption aller Mitglieder der Iminosäuren-Glycin-Gruppe nach.
Auch in vitro hemmten sich Prolin, Hydroxyprolin und Glycin bei der Aufnahme in das Tubulusepithel wechselseitig (128). Trotzdem wurde bald offensichtlich, daß verschiedene Transportsysteme am Prolintransport beteiligt sind. Mohyuddin und Scriver (92, 93), die mit Nierenrindenschnitten arbeiteten, fanden für den Prolintransport ein Transportsystem mit niedrigem K_m-Wert, zu dem auch Hydroxyprolin eine Affinität aufweist und ein Transportsystem mit niedrigem K_m-Wert, welches nur Glycin befördert. Alle drei Aminosäuren teilen jedoch ein gemeinsames Transportsystem mit hohem K_m-Wert, wobei auch mit anderen Aminosäuren Wechselwirkungen bestanden. Hillmann und Rosenberg (68) untersuchten den Prolintransport an isolierten Nierentubuli von Kaninchen, wobei sie ähnliche Ergebnisse erzielten. Sie fanden ebenfalls drei verschiedene Transportsysteme für Prolin, zwei mit niedrigen K_m-Werten, zu denen auch Alanin bzw. Glycin eine Affinität hatten und ein Transportsystem mit hohem K_m-Wert, das nur Prolin transportierte. Offensichtlich besitzt das Transportsystem der Iminosäuren-Glycin-Gruppe multiplen Charakter.
Verschiedene Anhaltspunkte sprechen dafür, daß es neben diesen vier Transportsystemen noch ein separates System für den Transport von β-Alanin, β-Aminoisobuttersäure und Taurin gibt (61, 126, 163).

Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren verschiedener Gruppen beim renalen Transport

Man hat mehrfach berichtet, daß auch zwischen Aminosäuren, die verschiedenen Transportgruppen angehören, beim renalen Transport Wechselwirkungen bestehen. So vermögen dibasische Aminosäuren den renalen Transport einiger neutraler Aminosäuren zu hemmen; auch das Umgekehrte trifft zu (17, 27, 150, 156). Außerdem inhibieren manche neutrale Aminosäuren den Transport von Iminosäuren (150, 156) und sauren Aminosäuren (151). Untersuchungen von Segal und Mitarbeitern (135) haben ergeben, daß sowohl einige neutrale als auch einige dibasische Aminosäuren von einem System mit hoher Transportkapazität befördert werden. Ein ähnliches System existiert auch in der Ehrlich-Aszites-Zelle (26 a). Young und Freedman (165) versuchen diese Befunde mit dem Vorkommen heterogener Transportsysteme zu erklären, nämlich einerseits von Systemen mit hoher Transportkapazität und geringer Substratspezifität, die Aminosäuren verschiedener Transportgruppen befördern und andererseits von Systemen mit niedriger Transportkapazität und hoher Substratspezifität, die nur eine Aminosäure oder maximal zwei Aminosäuren transportieren.

4. Altersabhängigkeit des renalen Aminosäurentransportes

Es ist bekannt, daß beim Menschen in der frühen postnatalen Phase eine Aminoacidurie auftritt. Die renale Clearance-Rate für Aminosäuren ist bei Neugeborenen gegenüber den entsprechenden Werten bei Erwachsenen deutlich erhöht (16, 36, 97, 122, 142). Auch bei Ratten (6, 154) und Küken (29) tritt dieses Phänomen auf; allerdings bestehen zwischen den einzelnen Aminosäuren zum Teil erhebliche Unterschiede. Die Erklärung dafür liegt wohl darin, daß die verschiedenen Aminosäurentransportsysteme sich unterschiedlich rasch entwickeln und dabei einige früher als andere ihre volle Leistungsfähigkeit erlangen (138 a).

Unterstützt wird diese Annahme durch in vitro - Studien. Webber und Cairns (157) zeigten, daß bei sehr niedriger Substratkonzentration und kurzer Inkubationsdauer das Ausmaß der Akkumulation von Glycin, Leucin, AIB, Asparaginsäure und Lysin in Nierenrindenzellen neugeborener Ratten im Vergleich zu erwachsenen Tieren reduziert war. Allerdings trifft dies bei höherer Substratkonzentration nicht für alle Aminosäuren zu (7). Dagegen ergab sich bei längerer Inkubation bei neugeborenen Tieren eine höhere intrazelluläre Substratkonzentration als bei Erwachsenen (157). Baerlocher und Mitarbeiter (6) bestätigten diesen Befund für AIB und fanden dieselben Verhältnisse für Prolin und Glycin als Transportsubstrate. Andere Arbeiten (6, 134, 155) erbrachten vergleichbare Ergebnisse, obgleich möglicherweise Unterschiede zwischen verschiedenen Rattenstämmen auftraten. Segal und Mitarbeiter (134, 136) konnten nämlich an Nierenrindenschnitten von neugeborenen Ratten im Vergleich zu erwachsenen Ratten bei kurzfristiger Inkubation keine geringere Akkumulationsrate für Prolin, Lysin, Glycin und Cystein nachweisen. Diese Autoren verwendeten allerdings Spargue-Dawley-Ratten, während die bereits zitierten Untersuchungen an Wistar-Ratten bzw. Long-Evans-Ratten durchgeführt wurden. Die im Vergleich zu erwachsenen Tieren erhöhte intrazelluläre Akkumulation von Aminosäuren in Nierenrindenschnitten von neugeborenen Tieren nach längerer Inkubation beruht nach kinetischen Untersuchungen auf einem langsameren Efflux der Aminosäuren aus der Tubuluszelle neugeborener Tiere (6, 134, 155). Somit stellen Influx und Efflux anscheinend zwei getrennte, identifizierbare Prozesse der Zellmembran dar (5).
In Anbetracht der erhöhten Ausscheidung von Aminosäuren bei neugeborenen Individuen besteht Anlaß zur Annahme, daß ein reduzierter Efflux von Aminosäuren durch die antiluminale Membran der Tubuluszelle diese Aminoacidurie verursacht (134).
Untersuchungen an Nierenrindenschnitten von 1 Woche alten Ratten haben gezeigt, daß AIB zu diesem Zeitpunkt nur von

einem Transportsystem mit niedrigem K_m-Wert transportiert wird (8), während Scriver und Mohyuddin (125) bei erwachsenen Ratten Transportsysteme mit niedrigem und hohem K_m-Wert nachwiesen. Auch für Prolin und Glycin gibt es beim erwachsenen Tier zwei Transportsysteme. In den Nieren von 1 Woche alten Ratten werden Prolin und Glycin hingegen nur von einem Transportsystem mit hohem K_m-Wert befördert (7, 8); dieses System transportiert sowohl Prolin als auch Glycin (8).

5. Einfluss von Hormonen auf den renalen Aminosäurentransport

Effekte von Hormonen auf den renalen Aminosäurentransport sind nur spärlich belegt. Kürzlich wurde nachgewiesen, daß die Zugabe von Parathormon zum Inkubationsmedium die Akkumulation von Aminosäuren in Nierenrindenzellen stimuliert (159). Dieselbe Wirkung wie Parathormon hat auch cyclisches Adenosin-3',5' - monophosphat (cAMP) und N^6-2'-O-Dibutyl-cAMP (159). Möglicherweise beeinflußt somit Parathormon den renalen Aminosäurentransport über eine Stimulierung des Adenylat-Cyclase-Systems. Der Effekt von cAMP auf den renalen Aminosäurentransport geht allerdings bei Zusatz von Cycloheximid oder Puromycin zum Inkubationsmedium - sie hemmen die Proteinsynthese - weitgehend verloren (159). Zudem scheint der Mechanismus, auf dem die angeführte Wirkung des cAMP beruht, Na^+-abhängig zu sein; denn eine Inkubation in Na^+-freiem Medium oder der Zusatz von Ouabain, einem Inhibitor der Na-K-ATPase (48), hebt den cAMP-Effekt vollständig auf (159). Über den Mechanismus, dem die Wirkung von cAMP zugrunde liegt, ist noch sehr wenig bekannt. Immerhin stellt Lorentz (84) anhand von Mikroinjektionsstudien an diuretischen Ratten während der Infusion von cAMP bzw. Dibutyl-cAMP Veränderungen der Permeabilitätscharakteristika im proximalen Tubulusabschnitt fest.
Insulin scheint nach Untersuchungen an Nierenrindenschnitten von erwachsenen Ratten den renalen Aminosäurentransport nicht zu beeinflussen (159).

Man hat in der Niere spezielle Rezeptoren für Glucocorticoide nachgewiesen (55, 60, 109); darauf stützt sich die Hypothese, daß Glucocorticoide in der Physiologie der Niere möglicherweise eine Rolle spielen (55). Effekte von Glucocorticoiden auf den renalen Aminosäurentransport sind bislang allerdings nicht beschrieben.

METHODISCHER TEIL

1. Tiermaterial

a) Bei den Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der Akkumulation von α-Aminoisobuttersäure (AIB) in Nierenrindenzellen von Wiederkäuern wurden 1 - 6 Tage alte Lämmer mit einem Gewicht zwischen 2 und 8 kg sowie Schafe im Alter von 2,5 - 4 Monaten mit einem Gewicht von 15 - 40 kg der Rasse "Merino-Landschaf" verwendet.

b) Die Untersuchungen zur Abhängigkeit der AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Wiederkäuern von der Vormagenentwicklung wurde in zwei Versuchsreihen an je 12 gleichaltrigen Tieren durchgeführt. Durch geeignete Fütterung (siehe unten) wurde die Vormagenentwicklung bei je sechs Tieren gehemmt, bei den übrigen Tieren stimuliert.
In den folgenden Ausführungen werden die Lämmer, deren Vormagensystem sich nicht weiterentwickelt hatte, als "Milchlämmer" oder Gruppe M bezeichnet; die Tiere mit fortgeschrittener Vormagenentwicklung werden dagegen als Gruppe HK (mit Heu und Kraftfutter gefüttert) zusammengefasst.

Die Milchlämmer der ersten Versuchsreihe hatten am Ende der Fütterungsperiode ein Gewicht von durchschnittlich 17,0 kg; die Tiere der Gruppe HK waren nach Beendigung der Fütterungsperiode durchschnittlich 20,3 kg schwer. In der zweiten Versuchsreihe erreichten die Lämmer der Gruppe M ein durchschnittliches Endgewicht von 20,7 kg; bei den Tieren der Gruppe HK betrug es 20,5 kg.

c) Für einige Versuche standen Rehe aus dem Wildgehege Jachenau (am Walchensee) zur Verfügung. Das durchschnittliche Körpergewicht dieser Tiere lag unmittelbar vor der Tötung bei 18,7 kg.

2. Fütterung der Versuchstiere

a) Für die Untersuchungen zur Altersabhängigkeit der AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen wurden einerseits junge Lämmer verwendet, die in einem Lämmeraufzucht- und Mastbetrieb gehalten worden waren. Die Versuche mit diesen Tieren wurden zum Teil unmittelbar im Anschluß an die Kolostralmilchperiode durchgeführt. Eine Anzahl dieser Lämmer war jedoch darüberhinaus noch einige Tage lang an einer Lammbar mit Milchaustauschtränke (Tab. 1) ernährt worden, die in einer Konzentration von 160 g Trockenpulver/Liter Wasser verabreicht worden war.
Andererseits fanden "Schafe" zwischen 15 kg und 40 kg Körpergewicht Verwendung, die im gleichen Schafmastbetrieb aufgezogen worden waren. Diese Tiere erhielten bis zur sechsten Lebenswoche neben Milchaustauschtränke (Tab. 1) zusätzlich Kraftfutter für Aufzucht und Mast (Tab. 2), Maissilage und Heu ad libitum. Danach wurde keine Milchaustauschtränke mehr angeboten.

b) Fütterung der Lämmer der Gruppen M und HK
Für diese Versuchsreihen wurden neugeborene Lämmer herangezogen, die noch nicht vom Mutterschaf abgesetzt waren. Ihr Durchschnittsgewicht betrug 4,4 kg. Diese Tiere wurden bis zur dritten Lebenswoche ausschließlich mit Milchaustauschtränke (Tab. 1) aufgezogen, die ihnen in der ersten Woche sechsmal täglich angeboten wurde. Der durchschnittliche Verzehr pro Tier in dieser Zeit betrug einen Liter pro Tag. Bis zur dritten Lebenswoche erhöhte sich die durchschnittliche Tränkeaufnahme der Tiere auf zwei Liter pro Tag. Ein Liter Milchaustauschtränke enthielt 160 g Trockenmasse.
Anschließend wurden die Tiere in zwei bezüglich Gewicht und Geschlecht möglichst ausgeglichene Gruppen unterteilt. Während eine Gruppe wie zuvor ausschließlich mit

Milchaustauschtränke ernährt wurde (Gruppe M), erhielt die andere zusätzlich Heu und Kraftfutter ad libitum (Gruppe HK).
Die Milchlämmer steigerten den Verzehr bis zur sechsten Lebenswoche auf 2,5 Liter Milchaustauschtränke (400 g Trockenmasse) pro Tag. Anschließend wurde die Konzentration des Milchaustauschers auf 200 g Trockenmasse/ Liter Wasser heraufgesetzt. Die tägliche Tränkeaufnahme pro Tier erhöhte sich bis zum Ende der Tränkeperiode auf drei Liter bzw. 600 g Milchaustauscher.
Der Kraftfutterverzehr der Gruppe HK stieg bis zur sechsten Lebenswoche von etwa 100 g auf 330 g pro Tier und Tag an, während gleichzeitig das Angebot an Milchaustauschtränke langsam reduziert wurde. Danach wurde diesen Lämmern nur noch Heu und Kraftfutter verabreicht.

Nachdem in der ersten Versuchsreihe das Kraftfutter ad libitum angeboten worden war und der tägliche Verzehr pro Tier am Ende der Fütterungsperiode etwa 700 g betragen hatte, wurden die Kraftfuttergaben in der zweiten Versuchsreihe bei unverändertem Heuangebot stufenweise eingeschränkt. In der vorletzten Lebenswoche wurde das Angebot auf 600 g, in der letzten Woche auf 400 g pro Tier und Tag herabgesetzt. Diese Maßnahme sollte ein möglichst ausgeglichenes Körpergewicht aller Versuchstiere am Ende der Fütterungsperiode gewährleisten.

Tabelle 1: Zusammensetzung der Milchaustauschtränke[1)]

Magermilchpulver	62,0 %
Fett	30,0 %
teilverzuckerte, aufgeschlossene Maisquellstärke	3,0 %
Süßmolkenpulver	2,5 %
Vitamin-Mineralstoff-Antibiotika-Vormischung	2,5 %
	100,0 %

1) Bayerische Milchindustrie GmbH, Landshut

Tabelle 2: Zusammensetzung des Kraftfutters[1)]

Sojaschrot	33,3 %
Zuckerrübenschnitzel	30,8 %
Haferschrot	16,7 %
grob gemahlenes Gerstenschrot	16,7 %
Vitamin-Mineralstoff-Mischung	2,5 %
	100,0 %

3. Versuchsablauf

a) Versuchstechnik

Zwölf Stunden vor der Tötung wurde den Lämmern, die fütterungsbedingte Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, das Futter entzogen. Bei den übrigen Tieren unterblieb diese Maßnahme.
Mit einer Dosis von 1 mg Rompun®/kg Körpergewicht und 2,5 mg Ketanest®/kg Körpergewicht wurden die Lämmer narkotisiert und den noch lebenden Tieren beide Nieren entnommen; bei den Rehen geschah dies unmittelbar nach der Tötung mit dem Bolzenschußapparat.
Die Organe wurden sofort nach der Entnahme aus der Bauchhöhle auf Eis gelegt. Darauf wurden die Nieren halbiert, die Kapsel entfernt und Nierenrindenstücke zurechtgeschnitten, aus denen mittels eines Stadie-Riggs-Mikrotoms 0,3 - 0,5 mm dicke Schnitte angefertigt wurden. Die Schnittrichtung erfolgte tangential zur Nierenoberfläche. Der erste Schnitt wurde jeweils verworfen. Die anfallenden Schnitte wurden bis zum Ende des Schneidevorgangs in gekühltem (4°C) Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) (Tab. 3) gelegt. Anschließend wurde die Gesamtzahl der Schnitte in 100 ml Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) in einem 250 ml Erlenmeyer-Kolben bei Zimmertemperatur 10 Minuten lang präinkubiert. Die Schüttelfrequenz während der Präinkubation betrug 120 Oszillationen pro Minute. Zuvor war der Puffer jeweils 20 Sekunden lang mit einem O_2 : CO_2 - Gemisch (95 : 5) begast worden.

1) Baywa, München-Moosach

Zur Inkubation wurden jeweils vier durchschnittlich etwa 35 mg schwere Nierenrindenschnitte in einem 50 ml Erlenmeyer-Kolben überführt, der in 5 ml Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) ^{14}C-markierte α-Aminoisobuttersäure (AIB) bzw. ^{14}C-markiertes Inulin in gewünschter Konzentration enthielt. Die Inkubation fand bei 37°C unter O_2 : CO_2-Atmosphäre in einem Schüttelwasserbad statt. Die Schüttelfrequenz betrug ebenfalls 120 Oszillationen pro Minute. Die Inkubationsdauer variierte je nach Versuch zwischen 15 und 120 Minuten.
Nach Ablauf der festgesetzten Inkubationsdauer wurden die Schnitte den Kolben entnommen und die oberflächlich haftende Radioaktvität durch kurzes Schwenken in physiologischer Kochsalzlösung abgespült. Anschließend wurden sie auf Filterpapier abgetupft und unmittelbar danach gewogen.

Tabelle 3: Zusammensetzung des Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffers (pH 7,4):

NaCl-Lösung	0,9 %ig	100 Teile
KCl-Lösung	1,15%ig	4 Teile
$CaCl_2$-Lösung	0,11 M	3 Teile
KH_2PO_4-Lösung	2,11%ig	1 Teil
$MgSO_4 \times 7H_2O$-Lösung	3,82%ig	1 Teil
$NaHCO_3$-Lösung[1)]	1,3 %ig	21 Teile

Daraus errechnet sich folgende Ionenkonzentration pro Liter: 143,3 mÄq Na^+, 6,0 mÄq K^+, 2,5 mÄq Ca^{++}, 1,2 mÄq Mg^{++}, 128,0 mÄq Cl^{--}, 25,0 mÄq HCO_3^-, 1,2 mÄq $H_2PO_4^-$, 1,2 mÄq SO_4^{--}

1) Die $NaHCO_3$-Lösung wurde eine Stunde lang mit CO_2 begast

b) Messung der Radioaktivität

Mit Hilfe eines "Sample-Solubilizers" (Soluene 350 der Firma Packard Instruments) wurden die Schnitte in geeigneten Meßfläschchen aufgelöst und anschließend mit 20 ml Toluolszintillationsflüssigkeit (5,5 g Permablend der Firma Packard Instruments pro Liter Toluol) aufgefüllt. Darauf war es möglich, die in den Schnitten enthaltene ^{14}C-Aktivität in einem Flüssigkeitsszintillationszähler (Packard Tricarb, Liquid Scintillation Spectrometer, Modell 3375) zu messen. Zur Bestimmung der ^{14}C-Aktivität des entsprechenden Inkubationsmediums wurde jeweils 1 ml des Mediums in ein Zählfläschchen überführt. Nach Zufügung von 20 ml der von Bray (15) beschriebenen Szintillationslösung erfolgte die ^{14}C-Messung ebenfalls im Flüssigkeitsszintillationszähler.

Die Meßausbeute der ^{14}C-Aktivität in den Nierenrindenschnitten betrug etwa 80 %, diejenige der ^{14}C-Aktivität der Medien lag bei etwa 70 % der in der Probe vorhandenen Gesamtaktivität. Mit Hilfe der Quenchkorrektur wurde vom Meßergebnis auf die tatsächlich vorhandene ^{14}C-Aktivität geschlossen. Dazu diente je eine Meßreihe mit Nierenrindenschnitten sowie Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer von jeweils bekannter ^{14}C-Aktivität (^{14}C-Toluolstandard). Die Meßausbeute (% der Gesamtaktivität der Probe) wurde in ein Koordinatensystem gegen das Verhältnis der Zählausbeute der Probe in zwei verschiedenen Kanälen aufgetragen. Die daraus entstandene Quenchkurve ermöglichte die Bestimmung der Meßausbeute in Proben unbekannter Aktivität und damit auch die Berechnung der Gesamtaktivität der Probe.

c) Auswertung der Meßergebnisse

Die gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgende Aufnahme von AIB in die Nierenrindenzellen wurde durch den Ver-

gleich der AIB-Konzentration in der intra- und extrazellulären Flüssigkeit beurteilt. Als Transportparameter diente somit der Konzentrationsgradient von AIB zwischen der intrazellulären Flüssigkeit und dem Medium ($= [AIB]_i / [AIB]_a$).
Das intrazelluläre Flüssigkeitsvolumen ergibt sich aus der Differenz zwischen dem Gesamtwassergehalt der inkubierten Organschnitte und ihrem extrazellulären Flüssigkeitsanteil . Der Gesamtwassergehalt der Schnitte wurde durch Trocknen bei 105° C bestimmt.

Bestimmung des Extrazellulärraums

Zur Ermittlung des extrazellulären Flüssigkeitsanteils wurde ein Teil der Schnitte in ^{14}C-Inulin-haltigem Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) inkubiert. Da sich Inulin lediglich im Extrazellulärraum verteilt, war es an Hand der ^{14}C-Aktivität der inkubierten Schnitte möglich, den Extrazellulärraum nach folgender Formel zu berechnen:

$$\frac{\text{dpm im Schnitt}}{\text{dpm / ml Medium x Gewicht des Schnittes (g)}}$$

Dabei wurde vorausgesetzt, daß die Inulinkonzentration des Inkubationsmediums und der extrazellulären Flüssigkeit der Schnitte am Ende der Inkubation identisch sind. Diese Voraussetzung gilt auch für die Konzentration von AIB im Extrazellulärraum bzw. Inkubationsmedium.

Bestimmung der intrazellulären AIB-Konzentration und des AIB-Konzentrationsgradienten zwischen der intrazellulären Flüssigkeit und dem Medium

Die intrazelluläre AIB-Konzentration wurde ermittelt, indem die ^{14}C-Aktivität der intrazellulären Flüssigkeit eines Schnittes in Beziehung zu seinem intrazellulären Flüssigkeitsanteil gesetzt wurde. Die Anzahl der Zerfälle eines Schnittes wurde hierfür auf ein g Gewebe umgerechnet und von diesem Wert die ^{14}C-Aktivität subtrahiert, die im entsprechen-

den Extrazellulärraum vorhanden war (= dpm[1]/ml Medium x extrazelluläres Flüssigkeitsvolumen/g Gewebe). Die so errechnete Radioaktivität in der intrazellulären Flüssigkeit wurde zum intrazellulären Flüssigkeitsvolumen in Relation gesetzt. Das Volumen der intrazellulären Flüssigkeit ergibt sich aus der Differenz zwischen dem Gesamtwassergehalt von 1 g Gewebe und seinem extrazellulärem Flüssigkeitsanteil (ml Gewebswasser/ g Gewebe - ml Extrazellulärraum).
Die Errechnung der intrazellulären Konzentration erfolgte demnach nach der Formel:

$$\frac{\text{dpm/g Gewebe - dpm/ml Med. x ml Extr.Zellulärr./g Gewebe}}{\text{(ml Gewebswasser - ml Extrazellulärraum)/g Gewebe}}$$

Zur Bestimmung des AIB-Konzentrationsgradienten wurde der Quotient aus der intra- und extrazellulären ^{14}C-AIB-Konzentration gebildet:

$$\frac{\text{dpm/ml intrazelluläre Flüssigkeit}}{\text{dpm/ml Medium}}$$

Konzentration von AIB und Inulin im Inkubationsmedium

AIB[2, 3] wurde in einer Konzentration von 0,065 mM/l Inkubationsmedium verwendet. Die spezifische Aktivität betrug 0,769 mCi/mM.
Bei den Versuchen zur Abhängigkeit des AIB-Transports von der AIB-Konzentration wurde mit AIB-Konzentrationen zwischen 0,065 mM/l und 5,0 mM/l gearbeitet.

1) dpm = disintegrations per minute (= Zerfälle pro Minute)

2) ^{14}C-markierte AIB von Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig

3) nicht markierte AIB von Serva Feinbiochemica GmbH & Co., Heidelberg

Das zur Bestimmung des extrazellulären Raums erforderliche ^{14}C-markierte Inulin [1,2] lag in einer Konzentration von 10^{-4} mM/l vor, wobei die spezifische Aktivität 500 mCi/mM betrug.

4. Statistik

In den Tabellen und Abbildungen sind jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen angegeben. Im allgemeinen wurde zur statisitischen Auswertung der Gruppenunterschiede der zweiseitige t-Test nach Student herangezogen. Bei geringer Anzahl der Stichproben ($n < 10$) erfolgte die Auswertung nach dem Mann-Whitney-U-Test.

1) ^{14}C-markiertes Inulin von Amersham Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig

2) nicht markiertes Inulin von Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim

ERGEBNISSE

1. Altersabhängigkeit der AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten

Zunächst wurde die Akkumulation von AIB in Nierenrindenschnitten von Lämmern und Schafen untersucht. Für die beiden verwendeten Altersgruppen (Lämmer 1 - 6 Tage, Schafe 2,5 - 4 Monate alt) ergaben sich deutliche AIB-Konzentrationsgradienten zwischen der intra- und extrazellulären Flüssigkeit der Nierenrindenschnitte. Während sich bei einer Inkubationszeit von 15 Minuten kein Unterschied zwischen den beiden Altersgruppen ergab, war der Konzentrationsgradient von AIB bei Lämmern nach 80-minütiger Inkubation gegenüber dem Vergleichswert bei Schafen deutlich erhöht (Abb. 1).

2. Beeinflussung der Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen durch die Vormagenentwicklung

Der intermediäre Stoffwechsel des Wiederkäuers erfährt durch die Vormagenentwicklung einschneidende Umstellungen. In Untersuchungen an zwölf gleichaltrigen Lämmern wurde überprüft, ob sich daraus Auswirkungen auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten ergeben. Diese Tiere wiesen nämlich große Unterschiede in ihrer Vormagenentwicklung auf. Sechs der Lämmer waren ausschließlich mit Milchaustauschtränke (Tab. 1) ernährt worden (= Gruppe M der ersten Versuchsreihe, S. 18). Bei den anderen sechs Lämmern (Gruppe HK) war eine Umstellung der Ernährung auf Heu und Kraftfutter erfolgt (Tab. 2, S. 21). Nach Abschluß der Fütterungsperiode wurden die Tiere getötet und die Akkumulation von AIB in den Nierenrindenschnitten untersucht. Als Index für die unterschiedliche Vormagenentwicklung diente dabei das Naßgewicht der Vormägen (Tab. 4, S. 32). In Abb. 2 sind die AIB-Konzentrationsgradienten zwischen der intrazellulären Flüssigkeit der Nierenrindenschnitte und dem Inkubationsmedium bei beiden

Abb. 1 Konzentrationsgradienten von AIB zwischen der intra- und extrazellulären Flüssigkeit ($[AIB]_i / [AIB]_a$) von Nierenrindenschnitten von Lämmern und Schafen

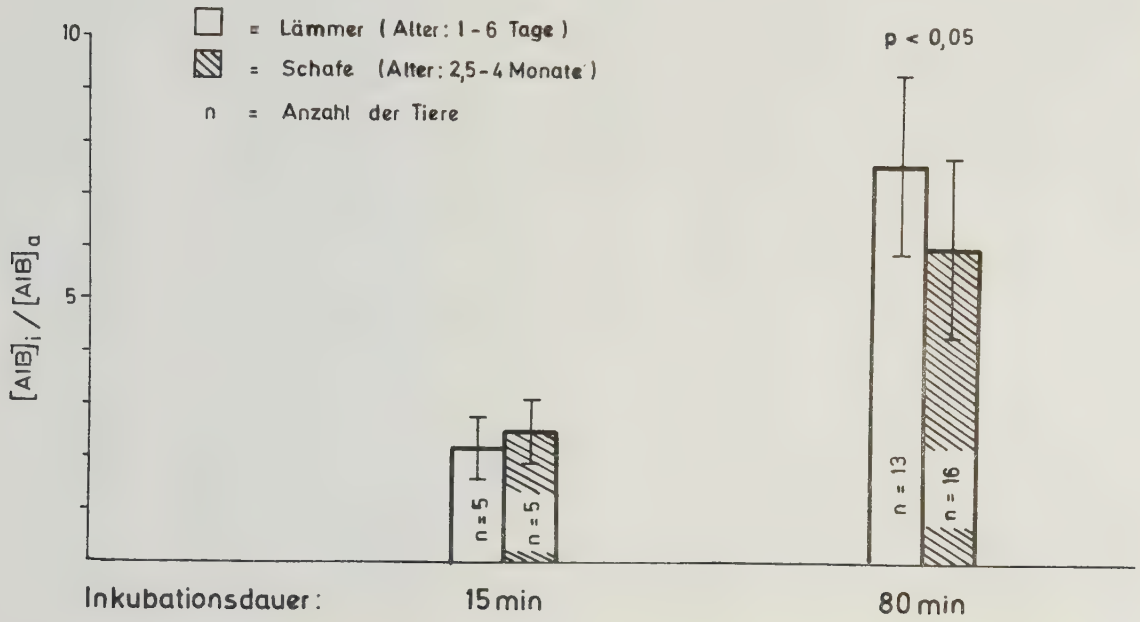
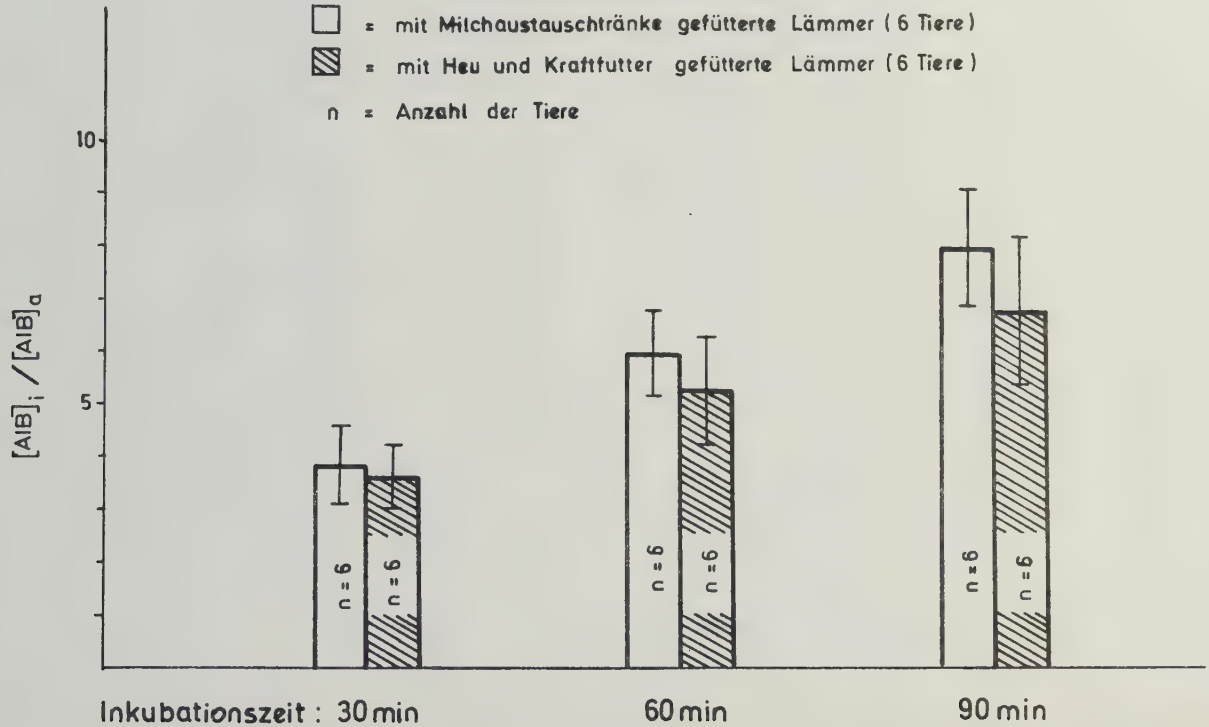


Abb. 2 Konzentrationsgradienten von AIB zwischen der intra- und extrazellulären Flüssigkeitvon Nierenrindenschnitten von Lämmern in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer und Fütterung der Tiere

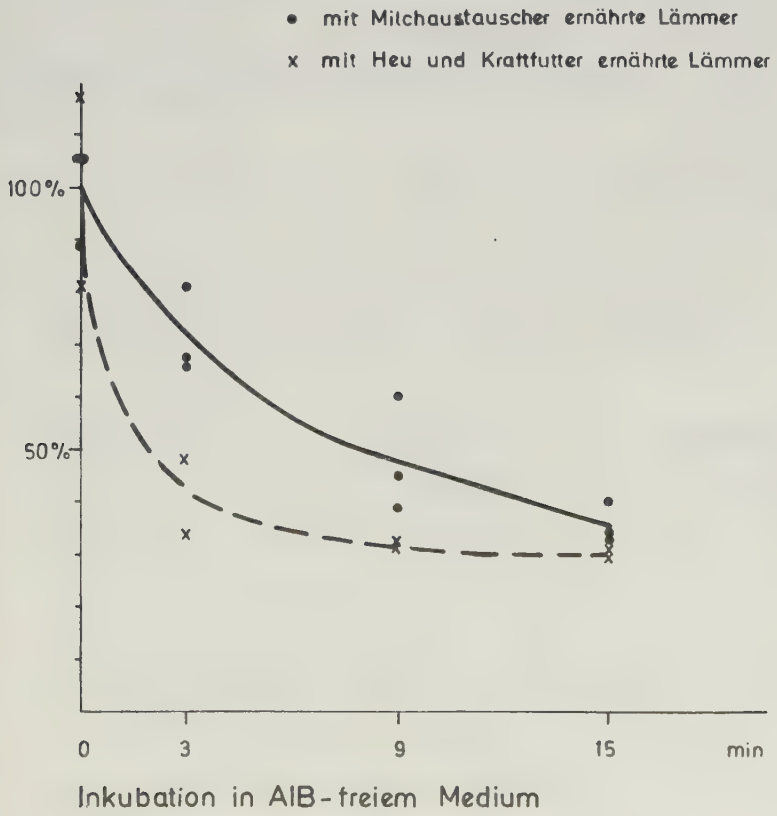


Gruppen dargestellt. Mit zunehmender Inkubationsdauer ergab sich bei den Milchlämmern eine gesteigerte AIB-Akkumulation gegenüber den HK-Lämmern (Abb. 2). Diese Tendenz konnte allerdings statistisch nicht gesichert werden.

3. Efflux von AIB aus Nierenrindenschnitten bei Lämmern mit unterschiedlicher Vormagenentwicklung

Bei einem Teil der Lämmer, die aufgrund ihrer Ernährung eine unterschiedliche Vormagenentwicklung aufwiesen (aus den Gruppen M und HK der zweiten Versuchsreihe, S. 18), wurde der Efflux von AIB aus den Nierenrindenschnitten gemessen. Das Naßgewicht der Vormägen stellte dabei wiederum ein Maß für die Vormagenentwicklung dar (Tab. 5). Nach 60-minütiger Inkubation der Nierenrindenschnitte in AIB-haltigem Medium wurden die Schnitte 0,3,9 und 15 Minuten lang in AIB-freiem Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) inkubiert. Die nicht in AIB-freiem Medium inkubierten Schnitte (Inkubationszeit = 0 min) dienten als Referenzschnitte ($[AIB]_i/[AIB]_a$ = 100 %), auf die die Konzentrationsgradienten der unterschiedlich lange in AIB-freiem Medium inkubierten Schnitte bezogen wurden. Dabei deutete sich bei den mit Heu und Kraftfutter (HK) ernährten Tieren ein rascheres Absinken der AIB-Konzentrationsgradienten an als bei den Milchlämmern (Abb. 3). Offensichtlich erfolgte somit der AIB-Efflux aus den Nierenrindenschnitten der HK-Lämmer schneller als bei den Milchlämmern.

Abb. 3 Efflux von AIB aus Nierenrindenzellen von unterschiedlich gefütterten Lämmern:
Die Nierenrindenschnitte wurden zunächst 60 Minuten lang in AIB-haltigem Medium inkubiert und anschließend in AIB-freies Medium überführt. In der Abbildung werden die am Ende der 60-minütigen Inkubation erreichten AIB-Konzentrationsgradienten ($[AIB]_i / [AIB]_a$) gleich 100 % gesetzt



Tab. 4 Naßgewicht der Vormägen von Lämmern mit unterschiedlich entwickeltem Vormagensystem (erste Versuchsreihe)

Alter der Tiere: 8 - 10 Wochen

Fütterung	Gewicht der gefüllten Vormägen (g)	Gewicht der entleerten Vormägen (g)
Heu und Kraftfutter (Gruppe HK)	2000 ± 115	590 ± 148
Milchaustauscher (Gruppe M)	870 ± 296	140 ± 19

Tab. 5 Naßgewicht der Vormägen von Lämmern mit unterschiedlich entwickeltem Vormagensystem (zweite Versuchsreihe)

Alter der Tiere: 10 - 12 Wochen

Fütterung	Gewicht der gefüllten Vormägen (g)	Gewicht der entleerten Vormägen (g)
Heu und Kraftfutter (Gruppe HK)	1926 ± 655	457 ± 110
Milchaustauscher (Gruppe M)	1628 ± 189	162 ± 25

Tab. 6 Einfluß von Cortison auf die intrazelluläre AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Schafen und Rehen

	$[AIB]_i / [AIB]_a$	
Tiermaterial	Kontrollen	+ Cortison[1)]
Schafe (2 Tiere)	6,97 ± 2,04 (n = 16)	6,73 ± 2,18 (n = 16)
Rehe (4 Tiere)	4,97 ± 1,17 (n = 32)	4,76 ± 1,23 (n = 32)

n = Anzahl der Nierenrindenschnitte

1) die Cortisonkonzentration im Inkubationsmedium betrug 10^{-6} M/l.

4. Einfluß verschiedener Hormone auf die Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen

a) Beeinflussung der AIB-Akkumulation durch Cortison

Die Wirkung von Cortison auf die Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen wurde an Nierenrindenschnitten von Schafen und Rehen untersucht. Dabei enthielt das Inkubationsmedium Cortison in einer Konzentration von 10^{-6} M/l. In Tab. 6 sind die Konzentrationsgradienten für AIB ($[AIB]_i/[AIB]_a$) nach einer Inkubation von 80 Minuten aufgeführt. Es ergab sich jedoch kein Cortisoneffekt.

b) Beeinflussung der AIB-Akkumulation durch Insulin und Glucagon

Sowohl bei Lämmern als auch bei Schafen wurde AIB während einer 80-minütigen Inkubation gegen ein hohes Konzentrationsgefälle akkumuliert. Bei jungen Lämmern (1 - 6 Tage alt) war der Konzentrationsgradient von AIB in Gegenwart von Insulin im Inkubationsmedium (0,1IE/ml) gegenüber den Kontrollwerten deutlich erhöht. Auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Schafen hatte Insulin hingegen keinen Einfluß (Abb. 4).
Auch bei Anwesenheit von Glucagon im Inkubationsmedium (3×10^{-6} M/l) wurde die Aufnahme von AIB in Nierenrindenschnitten von Schafen nicht beeinflußt. Allerdings zeigte sich auch bei Lämmern keine Wirkung (Abb. 4).

Analoge Untersuchungen wurden auch an fünf gleichaltrigen Lämmern durchgeführt, deren Vormagensystem aufgrund unterschiedlicher Ernährung verschieden stark entwickelt war. Drei der Tiere waren ausschließlich mit Milchaustauschtränke ernährt worden, während die übrigen zwei Tiere nach der dritten Lebenswoche auf eine Ernährung mit Heu und Kraftfutter umgestellt wurden (siehe 2. Ver-

Abb. 4 Einfluß von Insulin und Glucagon im Inkubationsmedium auf den renalen AIB-Transport bei Lämmern und Schafen

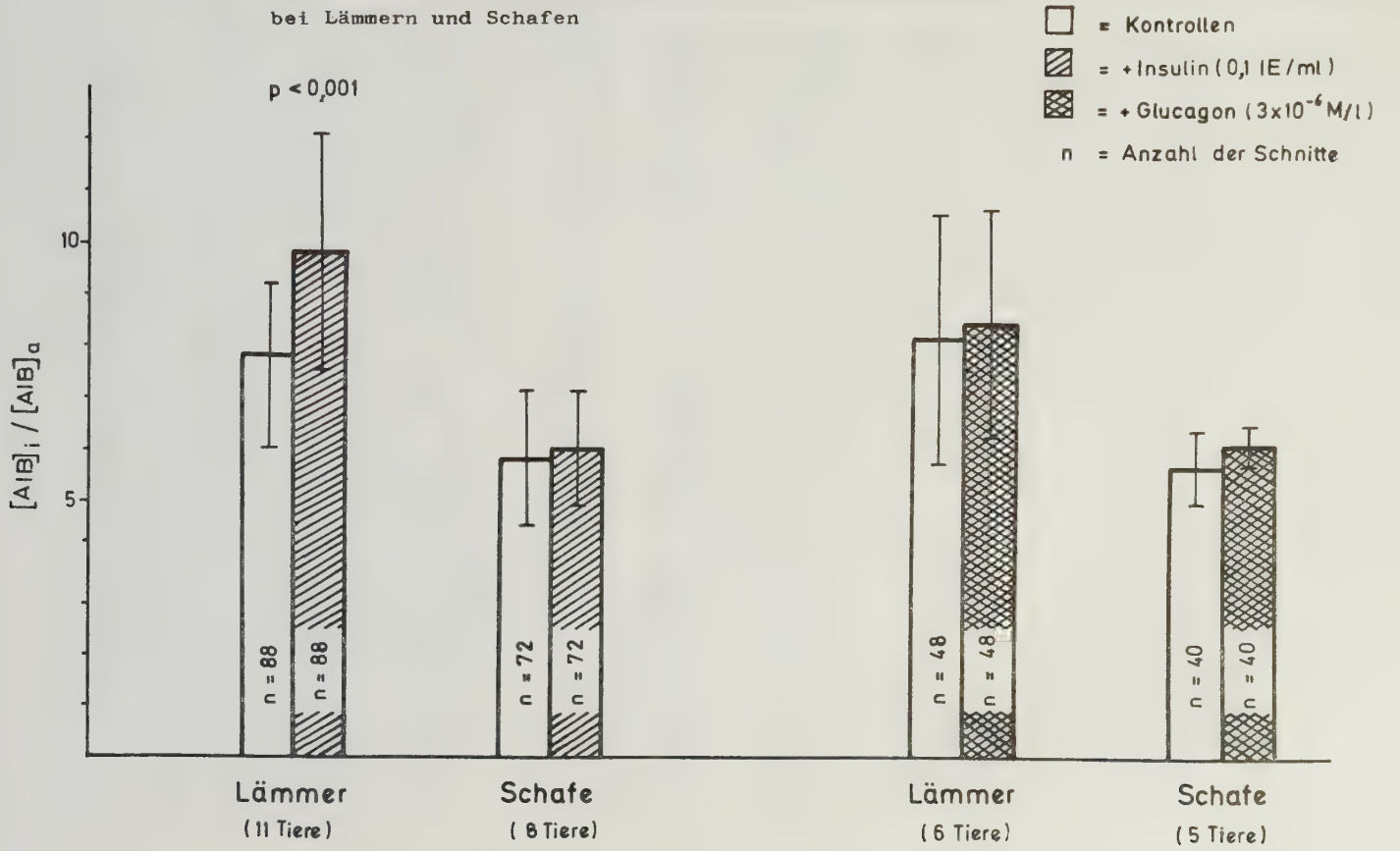


Abb. 5 Einfluß von Insulin, Glucagon und cyclischem Adenosin-3',5'-monophosphat im Inkubationsmedium auf die renale Akkumulation von AIB bei unterschiedlich ernährten Lämmern

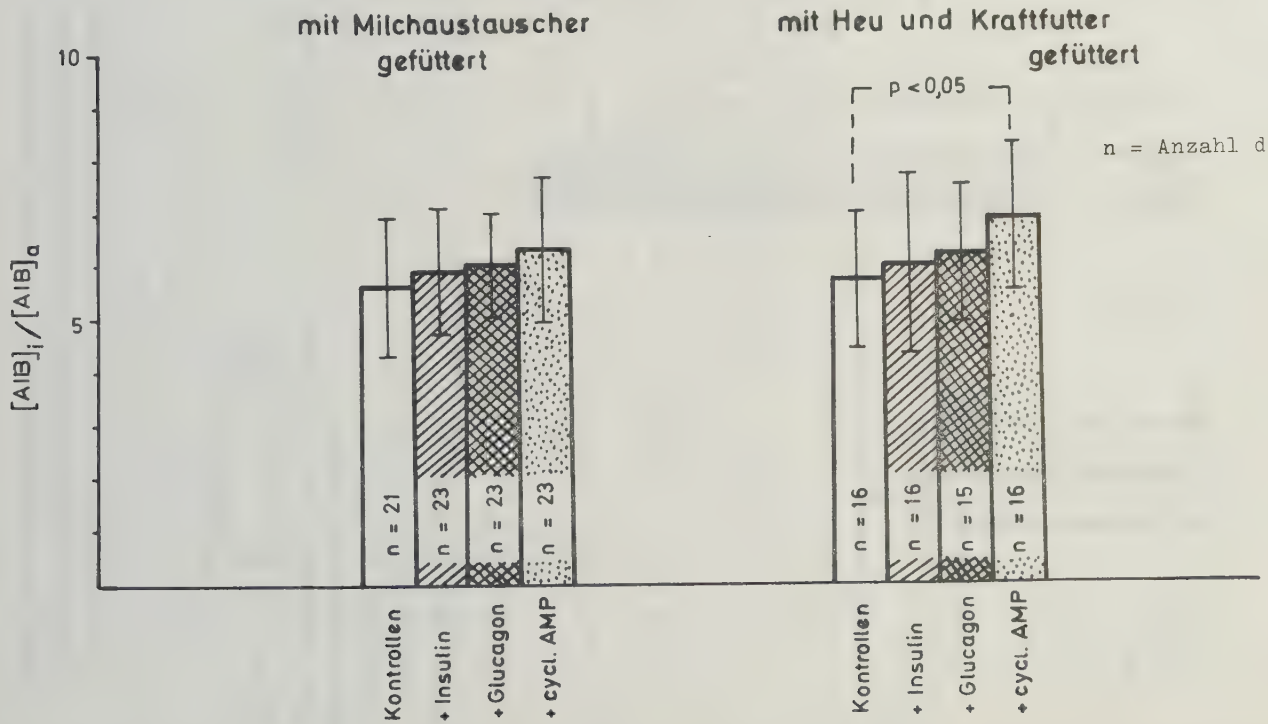
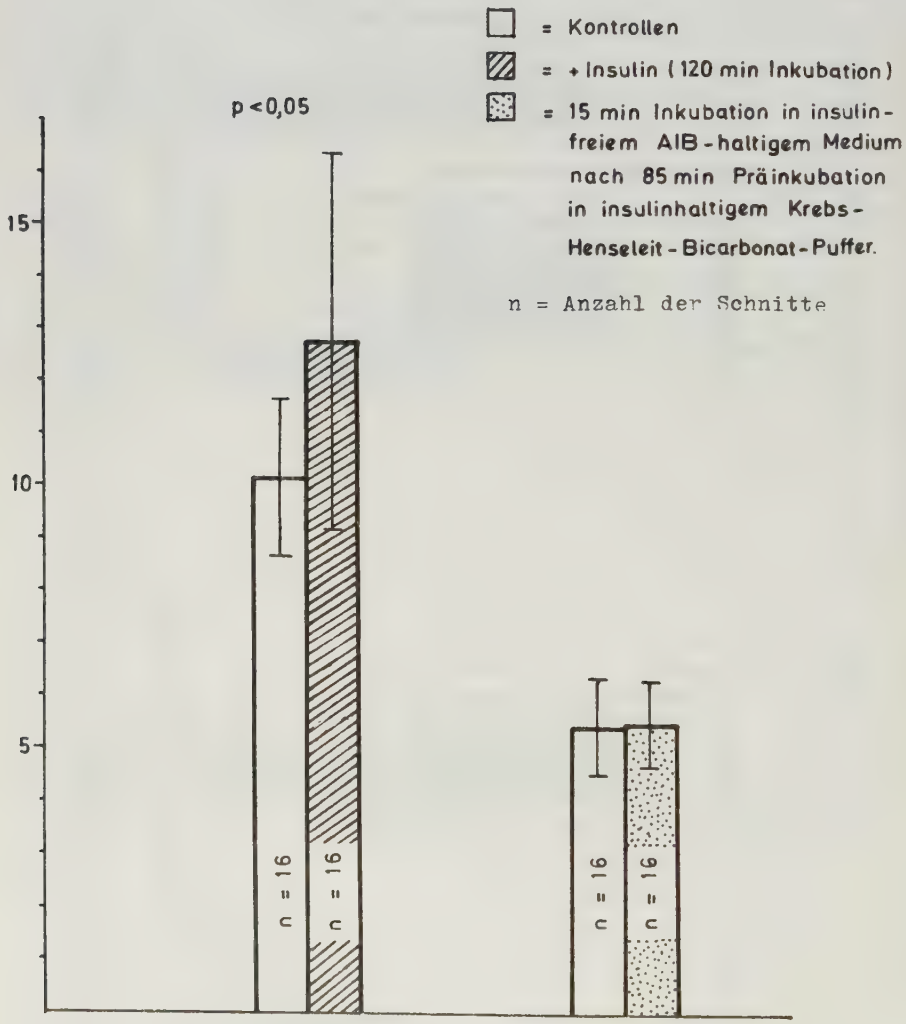


Abb. 6 Einfluß von Insulin im Inkubationsmedium auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Lämmern unter verschiedenen Inkubationsbedingungen



suchsreihe, S. 18). Als Index für die Vormagenentwicklung diente wiederum das Naßgewicht der Vormägen (Tab. 5).

Bei beiden Gruppen übte weder Insulin noch Glucagon einen Einfluß auf die AIB-Akkumulation in den Nierenrindenzellen aus (Abb. 5).

In weiteren Untersuchungen prüften wir die Insulinabhängigkeit der AIB-Akkumulation an Nierenrindenschnitten von Lämmern unter veränderten Inkubationsbedingungen.

Bei einer Verlängerung der Inkubationsdauer von 80 auf 120 Minuten wurde wieder die erwartete stimulierende Wirkung von Insulin auf die AIB-Akkumulation festgestellt (Abb. 6).

In weiteren Untersuchungen inkubierten wir einen Teil der Schnitte nach 10-minütiger Präinkubation 85 Minuten in AIB-freiem Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) in Gegenwart von Insulin. Bei den Kontrollwerten erfolgte eine entsprechende Inkubation in Insulinfreiem Puffer. Anschließend wurden beide Gruppen 15 Minuten lang in AIB-haltigem Medium ohne Insulinzusatz inkubiert. Dabei konnte jedoch keine Stimulierung der AIB-Aufnahme in Nierenrindenzellen durch Insulin nachgewiesen werden (Abb. 6).

5. Beeinflussung der Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen durch Adenosin-3',5'-monophosphat

In Untersuchungen an Nierenrindenschnitten von Ratten wurde ein stimulierender Effekt von cyclischem Adenosin-3',5'-monophosphat (= cAMP) auf die Akkumulation von Aminosäuren nachgewiesen (159). Diese Wirkung des cAMP trat allerdings erst nach 2 - 3-stündiger Präinkubation der Schnitte in cAMP-haltigem Medium auf.

Wir inkubierten die Nierenrindenschnitte von Lämmern und Schafen in unseren diesbezüglichen Untersuchungen 80 Minuten lang in Gegenwart von cAMP[1]. Wie aus Abb. 7 ersichtlich ist, ergab sich sowohl bei Lämmern als auch bei Schafen eine statistisch signifikante Steigerung der Aufnahme von AIB bei Anwesenheit von cAMP im Inkubationsmedium.
Auch bei Lämmern, die nach verschiedenartiger Ernährung eine unterschiedlich starke Vormagenentwicklung aufwiesen (Gruppe M und HK[2], 2. Versuchsreihe, s. S. 18), war jeweils eine Stimulierung der AIB-Aufnahme in Nierenrindenzellen durch cyclisches AMP nachweisbar (Abb. 5).

6. Einfluß von Zuckern auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen

Wir prüften den Einfluß von Glucose, 2-Desoxy-D-Glucose und Methyl-α-D-Glucopyranosid auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten von Schafen. Die Konzentration der Zucker im Inkubationsmedium betrug jeweils 10 mM/l. Nach einer Inkubation von 80 Minuten erfolgte die Bestimmung der AIB-Konzentrationsgradienten. Die Anwesenheit von Glucose und Methyl-α-D-Glucopyranosid führte dabei zu einer deutlichen, statistisch signifikanten Hemmung der AIB-Aufnahme in den Nierenrindenschnitten. Durch 2-Desoxy-D-Glucose dagegen wurde die AIB-Akkumulation nicht gehemmt (Abb. 8).

1) Konzentration von cAMP im Inkubationsmedium: 10^{-3}M/l
2) Naßgewicht der Vormägen: Tab. 5

Abb. 7 Einfluß von cAMP im Inkubationsmedium auf die intrazelluläre AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten von Lämmern und Schafen

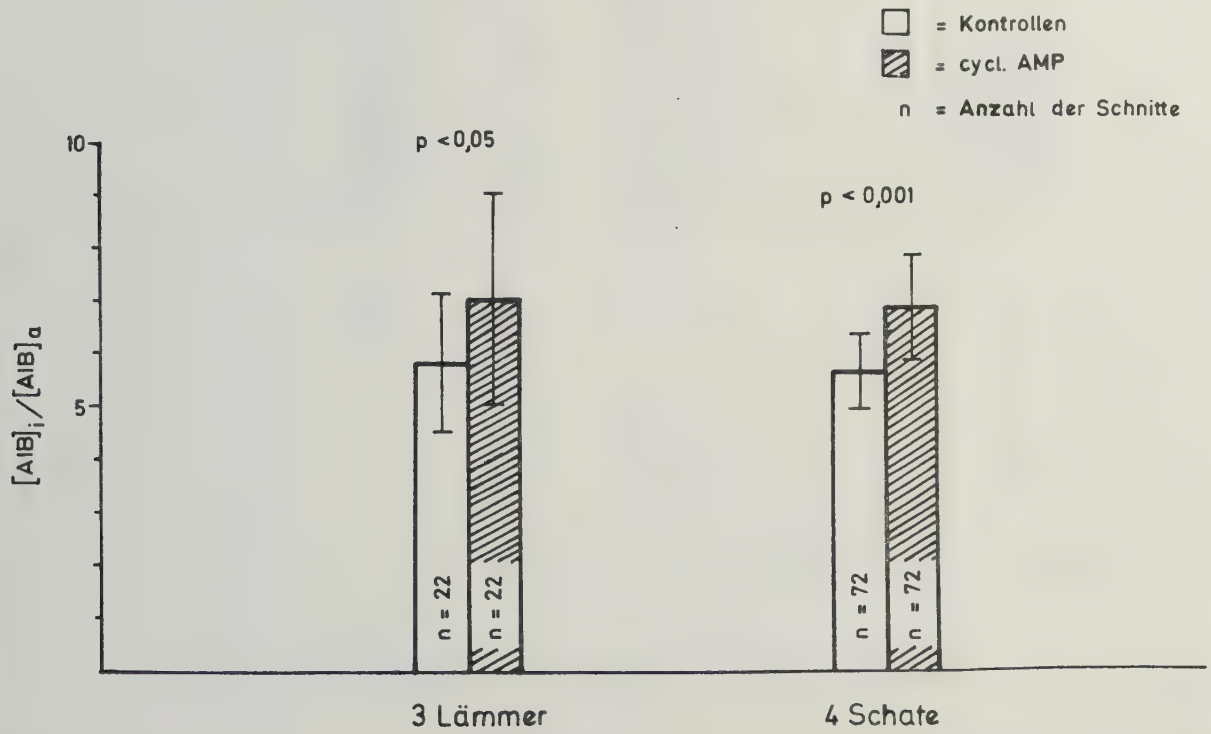
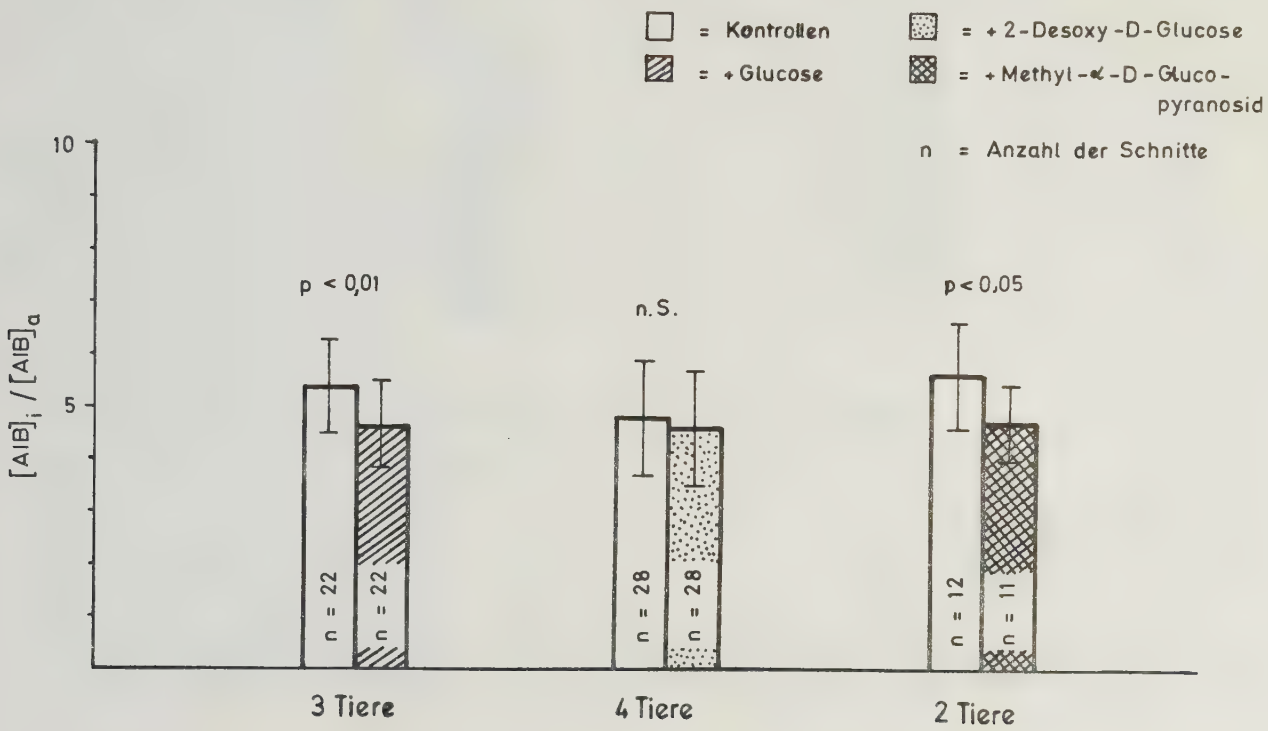


Abb. 8 Beeinflussung der intrazellulären AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten von Schafen durch die Anwesenheit von Zuckern (10 mM/l) im Inkubationsmedium



7. Einfluß von Pyruvat auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen

Beim Abbau von Pyruvat im intermediären Stoffwechsel entsteht Energie in Form von ATP. Pyruvat stellt also einen "Energielieferanten" dar. Wir untersuchten nun, ob ein hohes Energieangebot (in Form von Pyruvat) einen Effekt auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten von Lämmern und Schafen ausübt.

Nach 80-minütiger Inkubation war die AIB-Aufnahme in Nierenrindenzellen von Schafen in Gegenwart von Pyruvat überraschenderweise merklich reduziert. Bei Lämmern trat hingegen keine signifikante Hemmung auf (Abb. 9).

8. Einfluß der Na^+-Konzentration im Inkubationsmedium auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen

Für diese Untersuchungen standen uns neben Schaf und Lamm auch Rehe zur Verfügung. Wir verringerten die Na^+-Konzentration des Krebs-Henseleit-Bicarbonat-Puffer (pH 7,4) von 143 mÄq/l auf 30 mÄq/l, indem wir das Natriumchlorid durch Lithiumchlorid ersetzten.
Nach 80-minütiger Inkubation der Nierenrindenschnitte in Na^+-armem Medium trat bei allen Versuchstieren eine sehr deutliche, statistisch signifikante Reduzierung der AIB-Akkumulation auf (Abb. 10). Bei Schaf und Reh war der Konzentrationsgradient auf etwa 45 %, beim jungen Lamm indessen auf annähernd 30 % der Kontrolle verringert.

9. Konzentrationsabhängigkeit der renalen AIB-Aufnahme

Die Konzentrationsabhängigkeit der AIB-Akkumulation wurde in Nierenrindenschnitten von Schafen und Lämmern geprüft. Dabei wurde die Konzentration von AIB im Inkubationsmedium stufenweise von 0,065 mM/l auf 5,0 mM/l erhöht.
Nach 15-minütiger Inkubation erfolgte die Bestimmung der

Abb. 9 Einfluß von Pyruvat (10 mM/l) im Inkubationsmedium auf die intrazelluläre Akkumulation von AIB in Nierenrindenschnitten von Lämmern und Schafen

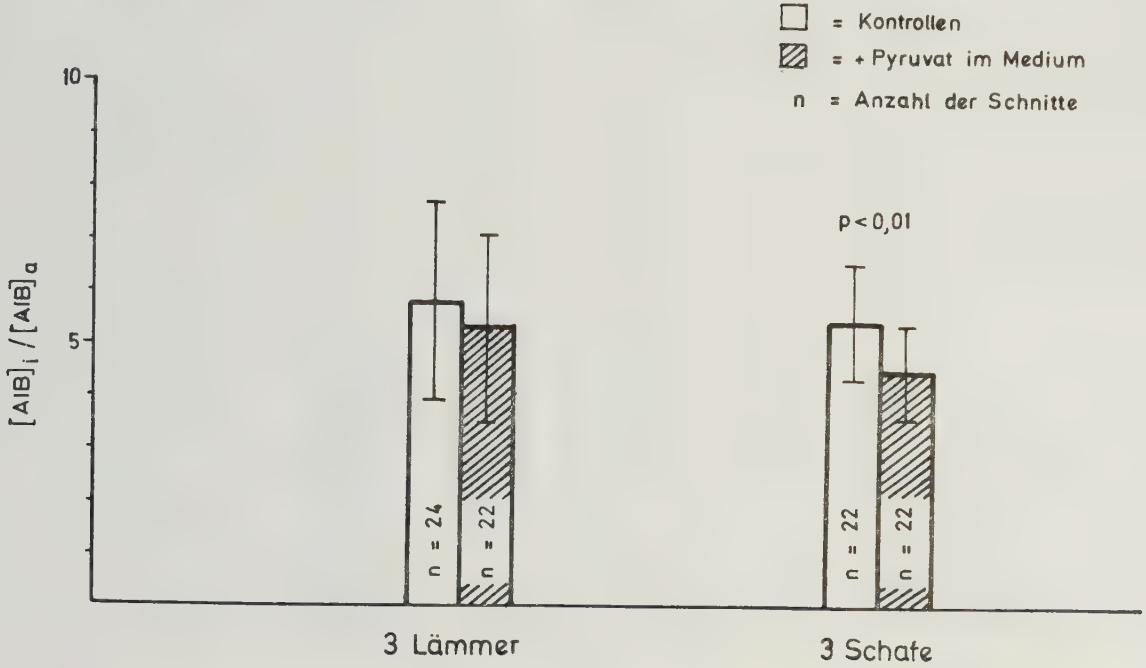
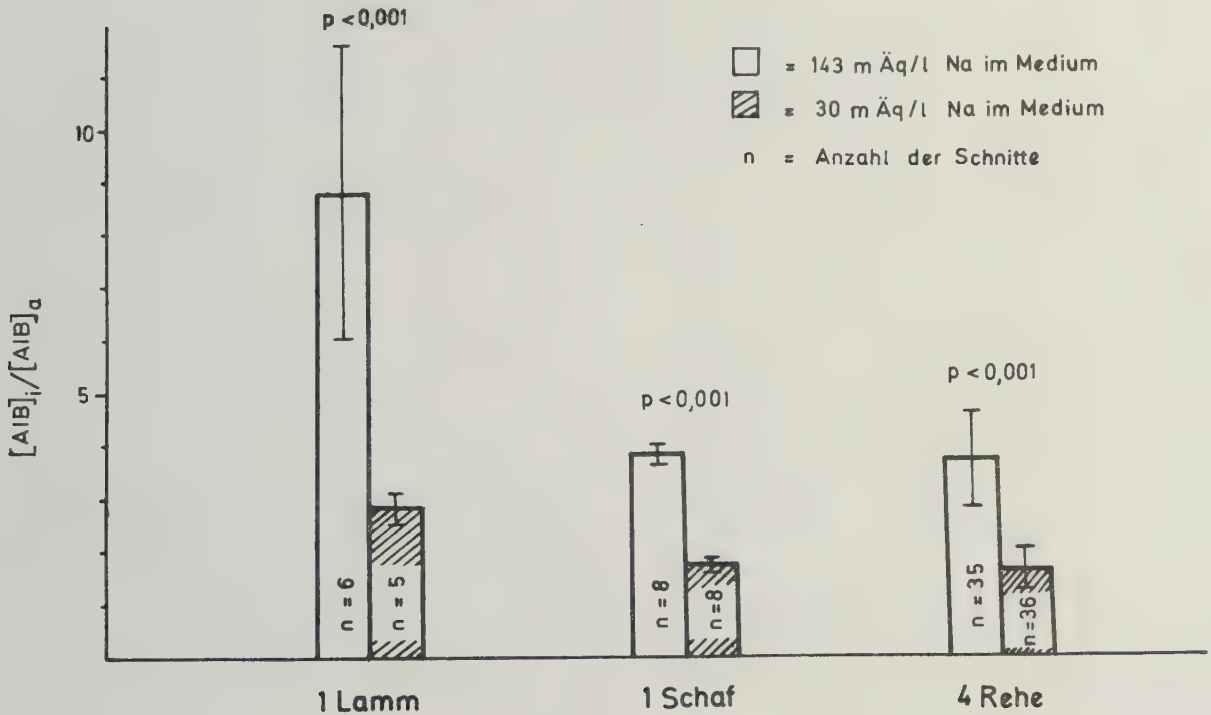


Abb. 10 Einfluß der Na^+-Konzentration des Inkubationsmediums auf die intrazelluläre AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten von Lamm, Schaf und Reh



intrazellulären Konzentration von AIB in den Schnitten. In Tab. 7 ist die extrazelluläre AIB-Konzentration jeweils der intrazellulären AIB-Konzentration gegenübergestellt. Der Unterschied zwischen Lämmern und Schafen war gering. Zudem war die Streuung der Werte zwischen den einzelnen Tieren einer Gruppe erheblich.
Es stellte sich nun die Frage, ob die Michaelis-Menten-Kinetik auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Lämmern und Schafen zutrifft. Um dies zu prüfen, wurden die reziproken Werte der AIB-Konzentration des Inkubationsmediums gegen die zugehörigen reziproken Werte der AIB-Konzentration in der intrazellulären Flüssigkeit aufgetragen. Die sich daraus ergebende Funktion (= Lineweaver-Burk-Diagramm) stellt jeweils eine Gerade dar (Abb. 11). Damit scheint die Aufnahme von AIB in die Nierenrindenzellen die Gesetze der Michaelis-Menten-Kinetik zu befolgen.
Zu beiden Regressionsgeraden konnte jeweils ein Wert, der in Tab. 7 aufgeführt ist, in Abb. 11 nicht maßstabsgetreu aufgeführt werden, war jedoch bei der Berechnung der Geraden berücksichtigt worden.
Der Schnittpunkt dieser Geraden mit der x-Achse stellt den negativen reziproken Wert der Michaelis-Konstanten (K_m) dar, während der Schnittpunkt der Geraden mit der y-Achse den reziproken Wert der maximalen Transportrate (V_{max}) repräsentiert. Bei den Schafen betrug K_m = 4,18 mM/l und V_{max} = 11,48 µM/ml intrazellulärer Flüssigkeit. Die entsprechenden Werte der Lämmer lagen für K_m bei 5,04 mM/l und für V_{max} bei 11,44 µM/ml intrazellulärer Flüssigkeit. Es ergaben sich somit keine diesbezüglichen Unterschiede zwischen Schafen und Lämmern. Da sich im Lineweaver-Burk-Diagramm für den renalen AIB-Transport sowohl beim jungen Lamm als auch beim Schaf nur eine Gerade ergab, dürfte der renale AIB-Transport jeweils nur durch ein Transportsystem erfolgen.

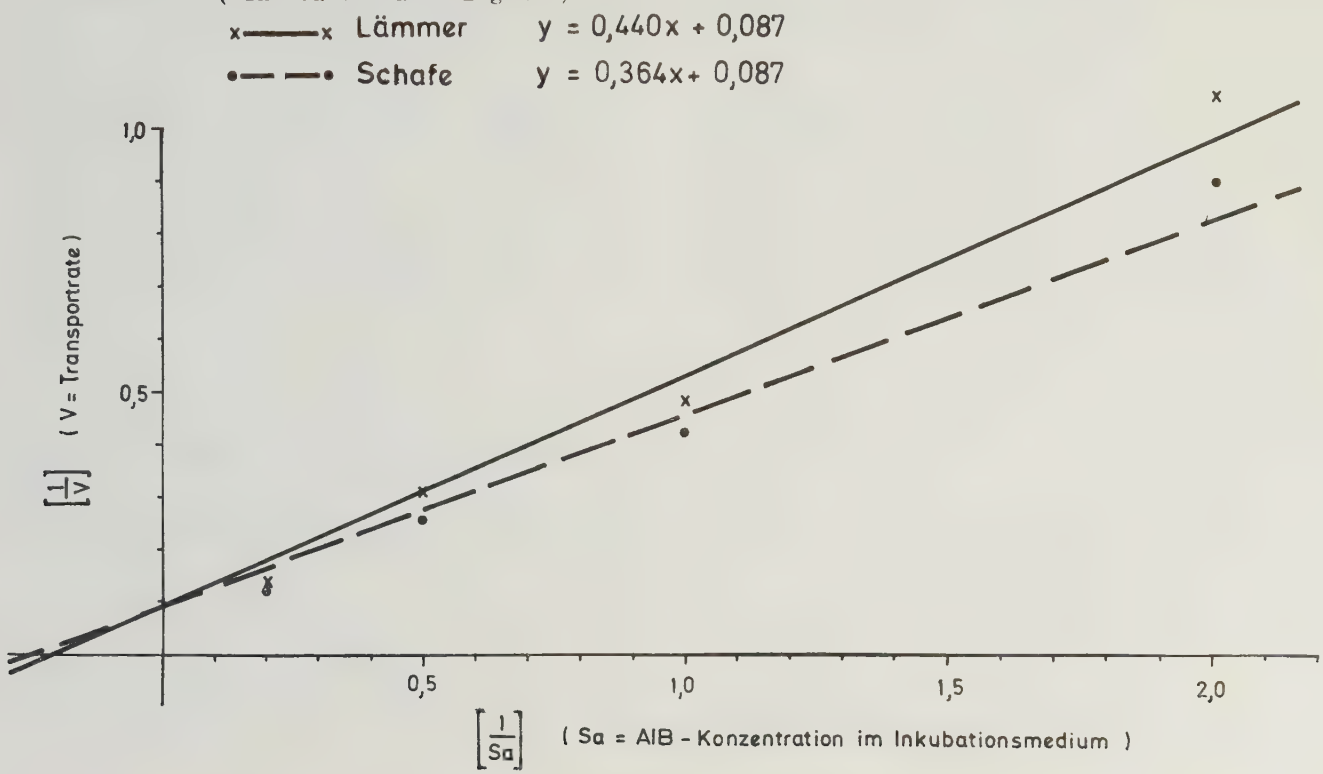
Tab. 7 Die intrazelluläre Konzentration von AIB in Nierenrindenschnitten von Lämmern und Schafen in Abhängigkeit von der extrazellulären AIB-Konzentration[1)]

	0,065 mM AIB im Medium	0,5 mM AIB im Medium	1,0 mM AIB im Medium	2,0 mM AIB im Medium	5,0 mM AIB im Medium
Lämmer (2 Tiere)	0,146 (0,141-0,150)[2)]	0,945 (0,895-0,995)	2,065 (2,04-2,09)	3,21 (3,12-3,32)	7,60 (6,9 - 8,3)
Schafe (4 Tiere)	0,176 (0,154-0,204)	1,226 (0,915-1,495)	2,365 (1,70-3,04)	3,885 (2,58-5,08)	7,93 (5,0 - 10,1)

1) Die extrazelluläre Konzentration von AIB entspricht der AIB-Konzentration im Inkubationsmedium

2) In der Klammer ist jeweils der höchste und niederste Wert der intrazellulären AIB-Konzentration angegeben.

Abb. 11 Abhängigkeit der intrazellulären AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten von Lämmern und Schafen von der AIB-Konzentration in der extrazellulären Flüssigkeit (Lineweaver-Burk-Diagramm)



10. Abhängigkeit des Extrazellulärraums der Nierenrindenschnitte von Alter und Vormagenentwicklung beim Lamm

Im Verlauf der durchgeführten Untersuchungen stellte sich heraus, daß der Extrazellulärraum von Nierenrindenschnitten bei jungen Lämmern signifikant kleiner war als bei Schafen (Tab. 8). Auch bei gleichaltrigen Lämmern, deren Vormagenentwicklung aufgrund unterschiedlicher Ernährung (Gruppe M = Fütterung mit Milchaustauschtränke, Gruppe HK = Fütterung mit Heu und Kraftfutter) ausgeprägte Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, ergab sich eine gesicherte Gruppendifferenz (Tab. 8).

Tab. 8 Abhängigkeit des Extrazellulärraums der Nierenrindenschnitte von Alter und Vormagenentwicklung beim Lamm

Extrazellulärraum %		
Lämmer (1 - 6 Tage alt)		Schafe (2,5 - 4 Monate alt)
29,59 ± 5,71 (n = 27)	$p < 0,001$	35,38 ± 3,94 (n = 35)
Gruppe M[1)]		Gruppe HK[1)]
32,10 ± 3,52 (n = 11)	$p < 0,05$	35,24 ± 3,57 (n = 12)

n = Anzahl der Tiere

1) Die Ergebnisse der ersten und zweiten Versuchsreihe (s. S. 18) wurden gemeinsam berücksichtigt

DISKUSSION

Die vorliegenden Untersuchungen über den renalen Transport von α-Aminoisobuttersäure (AIB) wurden in vitro an Nierenrindenschnitten durchgeführt, die zum größten Teil aus Zellen des proximalen Tubulus bestehen (106). Die Schnitte wurden in AIB-haltigem Medium inkubiert, wobei eine intrazelluläre Akkumulation von AIB gegen ein Konzentrationsgefälle stattfand. Dies beruht auf einer Assymetrie der Zellmembran, die sich in einer Begünstigung des AIB-Eintritts in die Zelle und einer Erschwerung des AIB-Austritts aus der Zelle äußert (130). Dadurch wird mit fortschreitender Inkubationsdauer AIB intrazellulär angereichert. Gleichzeitig steigt jedoch auch der AIB-Efflux in zunehmendem Maße an. Schließlich stellt sich zwischen Influx und Efflux ein Gleichgewicht ein, sodaß die intrazelluläre AIB-Konzentration nicht weiter ansteigt. Die Zelle ist jedoch in der Lage, das entstandene AIB-Konzentrationsgefälle zwischen der intrazellulären Flüssigkeit und dem Inkubationsmedium längere Zeit aufrechtzuerhalten.

Mit der intrazellulären Akkumulation von AIB in Nierenrindenschnitten gegen ein Konzentrationsgefälle ist das Hauptmerkmal eines aktiven Transportprozesses gegeben (106). Der transzelluläre Aminosäurentransport, der bei der Reabsorption von Aminosäuren in der Niere stattfindet, kann bei Verwendung dieser Untersuchungsmethode allerdings nicht dargestellt werden. Da jedoch der transzelluläre Aminosäurentransport im proximalen Nierentubulus von der Aminosäurenakkumulation in der Tubuluszelle abhängig ist, lassen die vorliegenden Untersuchungen gewisse Rückschlüsse auf den renalen transzellulären Aminosäurentransport zu.

Man hat beobachtet, daß Aminosäuren in Nierenrindenzellen neugeborener Ratten nach längerer Inkubation in stärkerem

Umfang gegen ein Konzentrationsgefälle akkumuliert werden als bei erwachsenen Ratten (6, 134, 155, 157). Beim Wiederkäuer liegen offenbar ähnliche Verhältnisse vor. Jedenfalls hat sich in unseren Versuchen bei jungen Lämmern (Alter: 1 - 6 Tage) im Vergleich zu Schafen nach 80-minütiger Inkubation von Nierenrindenschnitten eine höhere Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen ergeben (Abb. 1). Bei kurzfristiger Inkubation (15 Minuten) der Nierenrindenschnitte trat dieser Unterschied zwischen jungen Lämmern und Schafen allerdings nicht in Erscheinung. Da in diesem Fall die Akkumulation von AIB in der intrazellulären Flüssigkeit der Tubuluszellen hauptsächlich durch den AIB-Influx determiniert wird, dürfte der bei langfristiger Inkubation hinsichtlich der AIB-Akkumulation zu verzeichnende Unterschied zwischen jungen Lämmern und Schafen auf einem bei den Schafen erhöhten AIB-Efflux aus den Nierenrindenzellen beruhen. Auch Untersuchungen an Nierenrindenzellen von Ratten haben übereinstimmend gezeigt, daß die höhere AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von neugeborenen Ratten vor allem auf einem verminderten Efflux der Aminosäure aus den Tubuluszellen dieser Tiere beruht (6, 134, 155). Anscheinend bestehen somit Unterschiede in der Barrierenfunktion der Plasmamembran von Nierenrindenzellen zwischen neugeborenen und erwachsenen Tieren (6, 137, 155, 157).

Da das junge Lamm im Gegensatz zum Schaf noch nicht über ein entwickeltes Vormagensystem verfügt, wurde der renale AIB-Transport zusätzlich in Abhängigkeit von der Vormagenentwicklung untersucht. Dazu verwandten wir ca. 10 Wochen alte Lämmer, die aufgrund ihrer Ernährung starke Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen. Bei den ausschließlich mit Milchaustauschtränke ernährten Lämmern, deren Vormagenentwicklung gehemmt war, deutete sich im Vergleich zu den mit Heu und Kraftfutter gefütterten Tieren mit entwickeltem Vormagensystem bei zunehmender Inkubationsdauer ebenfalls eine höhere Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen an;

der Unterschied war allerdings statistisch nicht signifikant (Abb. 2). Untersuchungen über den AIB-Efflux weisen darauf hin, daß die in Nierenrindenschnitten von "Milchlämmern" zu registrierende höhere AIB-Akkumulation durch einen im Vergleich zu den mit Heu und Kraftfutter gefütterten Lämmern reduzierten Efflux von AIB (Abb. 3) zustande kommt. Anscheinend findet also auch beim Schaf im Laufe seiner Entwicklung eine Veränderung der Barrierenfunktion der Plasmamembran von Nierenrindenzellen statt, wobei die Vormagenentwicklung eine gewisse Rolle zu spielen scheint.

In Nierenrindenzellen erwachsener Ratten hat man für den Transport verschiedener Aminosäuren (68, 93, 125, 131) Transportsysteme mit hohen K_m-Werten und solche mit niedrigen K_m-Werten gefunden. Dagegen wurden bei jungen Ratten nur die letztgenannten Transportsysteme nachgewiesen (7, 8). In den vorliegenden Untersuchungen konnte beim Lamm und Schaf jeweils nur ein renales Transportsystem für AIB identifiziert werden, das annähernd den erwähnten Transportsystemen mit niedrigem K_m-Wert bei der Ratte entspricht (Abb. 11).

In unseren Untersuchungen stimulierte Insulin die Akkumulationen von AIB in Nierenrindezelln bei jungen Lämmern (Alter: 1 - 6 Tage), nicht jedoch bei Schafen bzw. älteren Lämmern (10 - 12 Wochen), die aufgrund ihrer Fütterung starke Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen (Abb. 4). Auch Weiss und Mitarbeiter (159) fanden bei entsprechenden Studien an Nierenrindenschnitten von 80 - 100 g schweren Ratten keinen Insulineffekt.

Unter unseren Versuchsbedingungen hängt die AIB-Akkumulation in den Nierenrindenzellen sowohl vom Ausmaß des Influxes als auch des Effluxes ab; somit könnte der beschriebene Insulineffekt entweder auf einem gesteigerten Influx oder auf einem reduzierten Efflux von AIB beruhen. Möglicherweise werden auch beide Prozesse durch Insulin beeinflußt. Der Verlust der Reaktion des renalen AIB-Transports auf Insulin beim Schaf scheint unabhängig von der Vormagen-

entwicklung zu sein. Denn weder bei 10 Wochen alten Lämmern, deren Vormagenentwicklung gehemmt war, noch bei gleichaltrigen Lämmern mit gut entwickeltem Vormagensystem beeinflußte Insulin die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, daß in unseren Versuchen die Inkubationsdauer meist nur 80 Minuten betrug. Es ist daher nicht auszuschließen, daß sich an Nierenrindenschnitten von älteren Lämmern und Schafen bei längerer Inkubationszeit hinsichtlich der AIB-Aufnahme ebenfalls ein Insulineffekt nachweisen läßt.

Verschiedene Autoren haben gezeigt, daß die Insulinkonzentration im Plasma von Lämmern verschiedenen Alters und erwachsenen Schafen identisch ist (9, 65, 144). Somit kann die unterschiedliche Reaktion des renalen Transports auf Insulin bei jungen Lämmern und Schafen sowie älteren Lämmern nicht auf Unterschiede in der Plasmakonzentration von Insulin zurückgeführt werden.

Unsere Ergebnisse können eher auf der Basis einer allgemeinen Abnahme der Insulinsensitivität mit fortschreitendem Alter (74, 144) erklärt werden.

Da AIB zu renalen Transportsystemen, die den Transport natürlicher neutraler Aminosäuren vermitteln, eine Affinität besitzt (27, 153), ist der renale Transport dieser Aminosäuren bei jungen Lämmern wahrscheinlich ebenfalls insulinempfindlich. Bekanntlich stimuliert Insulin den Aminosäurentransport in anderen Geweben wie z. B. in der Muskulatur und im Fettgewebe (4, 24). Dieser Effekt scheint auf der Bindung von Insulin an einen Rezeptor der Zellmembran zu beruhen (4, 94). Man nimmt an, daß der Hormoneffekt durch eine Strukturmodifikation der Plasmamembran ausgelöst wird (4). Unter Umständen ist der Insulineffekt auf den AIB-Transport in der Nierenrinde des Lammes auf einen ähnlichen Mechanismus zurückzuführen.

Sowohl beim Lamm als auch beim Schaf übte cAMP in unseren Versuchen einen stimulierenden Effekt auf die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen aus (Abb. 7). Dieses Phänomen ist bei der erwachsenen Ratte ebenfalls bekannt (98, 159). Nach derzeitiger Auffassung vermittelt cAMP den Effekt von Hormonen, die in der Lage sind, das Adenylat-Cyclase-System der jeweiligen Zelle zu aktivieren (22, 47, 103). Dieses Enzymsystem wiederum ist für die Produktion von cAMP verant-

wortlich (22, 47, 103). Parathormon aktiviert dieses System in der Nierenrinde (23, 25, 26, 41, 42, 145) und scheint auf diese Weise auch den renalen Aminosäurentransport zu stimulieren (159).
Auch Glucagon ist anscheinend fähig, das Adenylat-Cyclase-System in der Nierenrinde der Ratte zu aktivieren (88, 90). Über eine etwaige Beeinflussung der Aminosäurenaufnahme in Nierenrindenzellen durch Glucagon liegen bei der Ratte bislang keine Untersuchungen vor. Die AIB-Aufnahme in Nierenrindenzellen von Lämmern und Schafen wird jedoch nach unseren Versuchen durch Glucagon offensichtlich nicht beeinflußt (Abb. 4). Anscheinend ist somit beim Lamm und Schaf das Adenylat-Cyclase-System der Nierenrindenzellen, die AIB akkumulieren, nicht oder nicht genügend Glucagon-sensitiv.
Obwohl man inzwischen Rezeptoren für Glucocorticoide in der Niere gefunden hat (55, 60, 109), wurde bislang noch kein Effekt von Glucocorticoiden auf den renalen Aminosäurentransport beschrieben. Nach unseren Untersuchungen wird die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Schafen und Rehen von Cortison nicht beeinflußt (Tab. 6).

Da bei aktiven Transportprozessen gegen ein Konzentrationsgefälle Energie verbraucht wird, stellt sich die Frage, ob der renale Aminosäurentransport in vitro durch Inkubation des Nierengewebes in Gegenwart von energieliefernden Substraten beeinflußbar ist. Als geeignete Substanz bot sich Pyruvat an, das nach vorausgegangener Decarboxylierung in den Zitratzyklus eingeschleust wird und somit als energielieferndes Substrat fungieren kann. Überraschenderweise hemmte Pyruvat in unseren Versuchen beim Schaf die AIB-Aufnahme in die Nierenrindenzellen. Auch beim Lamm zeichnete sich eine entsprechende Tendenz ab (Abb. 9). Die Ursache dieser Hemmung ist unbekannt. Es ist bislang auch ungeklärt, ob für die renale Rückresorption von Pyruvat ein spezifisches Transportsystem existiert. Gegebenenfalls

wäre nämlich denkbar, daß zwischen diesem Transportsystem und dem Transportsystem für neutrale Aminosäuren Wechselwirkungen bestehen.
Bei der Ratte hat man verschiedentlich eine Na^+-Abhängigkeit der Akkumulation von AIB in Nierenrindenzellen beobachtet. Damit stimmen die Befunde überein, die sich in unseren Versuchen bei Reh, Schaf und Lamm ergeben haben. Eine Erniedrigung der Na^+-Konzentration des Inkubationsmediums von 143 mÄq/l auf 30 mÄq/l führte nämlich in diesem Fall zu einer hochsignifikanten Hemmung der intrazellulären AIB-Akkumulation in den Nierenrindenschnitten (Abb. 10). Vermutlich basiert diese Hemmung des renalen AIB-Transports vor allem auf einer Beeinträchtigung des AIB-Influxes (146).
Bei der Ratte hat man beobachtet, daß der renale Aminosäurentransport durch verschiedene Zucker, beispielsweise Glucose (139) und Methyl-α-D-Glucopyranosid (58), gehemmt wird. Auch beim Schaf wurden in unseren Versuchen die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen durch diese beiden Zucker gehemmt (Abb. 8). Die Anwesenheit von 2-Desoxy-D-Glucose im Inkubationsmedium wirkte sich dagegen auf den renalen AIB-Transport beim Schaf nicht aus. Bei Ratten bleibt die AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten durch diesen Zucker ebenfalls unbeeinflußt (101, 139). Dieser Befund überrascht nicht, wenn man den renalen Transport der erwähnten Zucker betrachtet. Während nämlich der renale Transport von Glucose und Methyl-α-D-Glucopyranosid wie der AIB-Transport Na^+-abhängig ist (37, 80, 81, 110, 112), wird 2-Desoxy-D-Glucose in der Niere auch in Abwesenheit von Na-Ionen aktiv transportiert (80, 82, 112). Somit kann man annehmen, daß der renale AIB-Transport nur mit dem Na^+-abhängigen Zuckertransportsystem der Nierenrindenzellen in Interaktion tritt. Die Wechselwirkungen zwischen diesen Transportsystemen scheinen also auf der gemeinsamen Na^+-Abhängigkeit zu beruhen.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde untersucht, ob der renale Aminosäurentransport beim Lamm entwicklungsbedingten Veränderungen unterliegt. Die Untersuchungen wurden an Nierenrindenschnitten vorgenommen. Zur Beurteilung des renalen Aminosäurentransports diente die gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgende intrazelluläre Akkumulation von ^{14}C-markierter α-Aminoisobuttersäure (AIB). Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

1. AIB wurde bei langfristiger Inkubation in Nierenrindenzellen von jungen Lämmern gegen ein höheres Konzentrationsgefälle akkumuliert als in Nierenrindenzellen von Schafen. Dagegen ergab sich bei kurzfristiger Inkubation kein derartiger Unterschied.
2. Es konnte sowohl beim jungen Lamm als auch beim Schaf jeweils nur ein renales Transportsystem für AIB nachgewiesen werden. Die Michaeliskonstante (K_m) dieses Transportsystems war beim jungen Lamm und Schaf praktisch identisch (5,0 bzw. 4,2 x 10^{-3}M).
3. Bei 10 - 12 Wochen alten Lämmern, die aufgrund unterschiedlicher Fütterung große Unterschiede in der Vormagenentwicklung aufwiesen, ergaben sich bezüglich der Akkumulation von AIB in Nierenrindenschnitten keine gesicherten Gruppenunterschiede. Bei den Lämmern mit nicht entwickeltem Vormagensystem schien der AIB-Efflux aus den Nierenrindenzellen im Vergleich zu ruminierten Lämmern reduziert zu sein.
4. Insulin stimulierte (Inkubationsdauer: 80 Minuten) die intrazelluläre AIB-Akkumulation in Nierenrindenschnitten von jungen Lämmern. Bei älteren Lämmern (Alter: 10 - 12 Wochen) mit fütterungsbedingten Unterschieden in der Vormagenentwicklung sowie Schafen war dies nicht der Fall.

5. Cyclisches Adenosin-3',5'-monophosphat steigerte die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Lämmern und Schafen gleichermaßen.

6. Glucagon beeinflußte den renalen AIB-Transport bei Lämmern und Schafen nicht. Auch die Anwesenheit von Cortison im Inkubationsmedium hatte bei Schafen und Rehen keinen Effekt auf den renalen AIB-Transport. Lämmer wurden in diese Untersuchungen nicht einbezogen.

7. Pyruvat hemmte die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Schafen geringgradig.

8. Eine Verringerung der Na^+-Konzentration des Inkubationsmediums von 143 mÄq/l auf 30 mÄq/l hatte eine starke Hemmung des renalen AIB-Transports bei Lamm, Schaf und Reh zur Folge.

9. Auch Glucose und Methyl-α-D-Glucopyranosid hemmten die AIB-Akkumulation in Nierenrindenzellen von Schafen. Dagegen übte 2-Desoxy-D-Glucose keinen Einfluß auf den renalen AIB-Transport beim Schaf aus.

Aus den Ergebnissen läßt sich ableiten, daß der renale Aminosäurentransport sowie dessen Regulation beim Lamm in der postnatalen Phase zum Teil entwicklungsbedingten Veränderungen unterliegen.

SUMMARY

It was investigated, whether in lambs developmental changes of renal amino acid transport occur. The experiments were carried out with kidney cortex slices. As parameter for renal amino acid transport intracellular accumulation of ^{14}C-labelled α-aminoisobutyric acid (AIB) was used. The following results were obtained:

1. At long-term incubation AIB accumulation against a concentration gradient by kidney cortex cells of young lambs exceeded that of sheep.
2. In both young lambs and sheep only one transport system for AIB was detected. The K_m of this transport system was the same in young lambs and sheep ($5,0 \times 10^{-3}$M and $4,2 \times 10^{-3}$M, respectively).
3. In lambs, 10 - 12 weeks old, which because of different feeding showed large differences in forestomach development, there was no significant group difference with regard to accumulation of AIB by kidney cortex slices. The efflux of AIB from kidney cortex cells appeared to be somewhat lower in lambs with rudimentary forestomach as compared to ruminating lambs.
4. Insulin stimulated accumulation of AIB by kidney cortex slices (incubation time: 80 min) of young lambs. In both older lambs (age: 10 - 12 weeks) with differences in forestomach development and sheep insulin did not affect renal AIB transport under these conditions.
5. Cyclic AMP enhanced accumulation of AIB by kidney cortex cells to the same extent in lambs and sheep.
6. Neither in lambs nor in sheep did glucagon influence renal AIB transport. The presence of cortisone in the incubation medium remained also without effect on renal AIB transport in sheep and roe deer. Lambs were not included in these experiments.

7. Pyruvate slightly inhibited AIB accumulation by kidney cortex cells of sheep.

8. The reduction of Na concentration of the incubation medium from 143 to 30 mEq/l caused a strong inhibtion of renal AIB transport in lambs, sheep, and roe deer.

9. In addition, unlike 2-deoxy-D-glucose, D-glucose and methyl- α-D-glucoside inhibited renal AIB transport in sheep.

These results show that renal amino acid transport and its regulation in part undergo developmental changes in the postnatal lamb.

LITERATURVERZEICHNIS

1. ALVERADO, F. Intestinal transport of sugars and amino acids: independence or federalism? Am. J. Clin. Nutr. 23, 824 (1970)

2. ARROW, V. K., WESTALL, R. G.
Amino acid clearances in cystinuria. J. Physiol., 142, 141 (1958)

3. ASATOOR, A. M., CRASKE, J., LONDON, D. R., MILNE, M. D.
Indole production in Hartnup disease. Lancet 1, 126 (1963)

4. AVRUCH, J., CARTER, J. R., MARTIN, D. B.
The effect of inuslin on the metabolism of adipose tissue. "Handbook of Physiology", Section 7: Endocrinology Vol. I Endocrine Pancreas, Section Editors: R. O. Greep, E. B. Astwood, American Physiological Society, Washington, D.C. 1972 p. 545

5. BAERLOCHER, K. E.
Developmental aspects of amino acid transport, in "Inborn Errors of Metabolism" edited by. F. A. Homanes and C. J. van den Berg, Acad. Press, London and New York, 1973 p. 143

6. BAERLOCHER, K. E., SCRIVER, C. R., MOHYUDDIN, F.
Ontogeny of iminoglycine transport in mammalian kidney. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 65, 1009 (1970)

7. BAERLOCHER, K. E., SCRIVER, C. R., MOHYUDDIN, F.
The ontogeny of amino acid transport in the rat kidney. I. Effect of distribution ratios and intracellular metabolism of proline and glycine. Biochim. Biophys. Acta 249, 353 (1971)

8. BAERLOCHER, K. E., SCRIVER, C. R., MOHYUDDIN, F.
The ontogeny of amino acid transport in rat kidney. II. Kinetics of uptake and effect of anoxia. Biochim. Biophys. Acta 249, 364 (1971)

9. BASSET, J. M., ALEXANDER, G.
Insulin, growth hormone, and corticosteroids in neonatal lambs.
Biol. Neonate 17, 112 (1971)

10. BERGERON, M. Microinjection intratubulaire associé à la radioautographié en microscopie électronique: réabsorption des acides aminés dans le tube conturné proximal du rein.
J. Microscopie 5, 32 a (1966)

11. BERGERON, M., MOREL, F.
Amino acid transport in rat renal tubules.
Am. J. Physiol. 216, 1139 (1969)

12. BEYER, H. K., WRIGHT, L. D., RUSSO, H. F., SKEGGS, H. R. PATCH, E. A.
The renal clearance of essential amino acids: tryptophane, leucine, isoleucine and valine.
Am. J. Physiol. 146, 330 (1946)

13. BEYER, H. K., WRIGHT, L. D., SKEGGS, H. R., RUSSO, H. F., SHANER, G. A.
Renal clearance of essential amino acids: their competition for reabsorption by the renal tubules.
Am. J. Physiol. 151, 202 (1947)

14. BICKEL, H., BOAR, H. S., ASTLEY, R., DOUGLAS, A. A., FINCH, E., HARRIS, H., HARVEY, C. C., HICKMANS, E. M., PHILPOTT, M. G., SMALLWOOD, W. C., SMELLIE, J. M., TEALL, C. G.
Cystine storage disease with amino-aciduria and dwarfism (Lignac-Fanconi disease).
Acta Pediat. Suppl. 90, 42, 1 (1952)

15. BRAY, G. A. A simple efficiant liquid scintillator for counting aqueous solutions in liqiud scintillation counter.
Anal. Biochem. 1, 279 (1960)

16. BRODEHL, H., GELLISEN, K.
Endogenous renal transport of free amino acids in infancy and childhood.
Pediatrics 42, 395 (1968)

16 a. BRODEHL, J., GELLISEN, K., KOWALEWSKI, S.
Isolated cystinuria (without lysine-ornithine-argininuria) in a family with hypocalcemic tetany. Klin. Wschr. 45, 38 (1967)

17. BROWN, R. R. Amino-aciduria resulting from cyclo-leucine administration in man.
Science 157, 432 (1967)

18. BRWON, D. M., MICHAEL, A. F.
Calcium and phosphate dependency of amino acid transport in rat kidney-cortical slices in vitro.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 124, 503 (1967)

19. BROWN, D. M., MICHAEL, A. F.
Effects of Ca^{2+} and Mg^{2+} upon amino acid transport in rat renal cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 233, 215 (1971)

20. BROWN, J. L., SAMIY, A. H., PITTS, R. F.
Localization of amino-nitrogen reabsorption in the nephron of the dog.
Am. J. Physiol. 200, 370 (1961)

21. BURG, M. B., ORLOFF, J.
Oxygen consumption and active transport in separated renal tubules.
Am. J. Physiol. 203, 327 (1962)

22. BUTCHER, R. W., ROBISON, G. A., SUTHERLAND, E. W.
Cyclic AMP and hormone action. in "Biochemical Actions of Hormones" edited by G. Litwack, Vol. II, Acad. Press, New York and London, 1972, p. 21

23. BUTLEN, D., JARD, S.
Renal handling of 3'-5-cyclic AMP in the rat.
Pflügers Arch. Eur. J. Physiol. 331, 172 (1972)

24. CAHILL, G. F. jr., AOKI, T. T., MARLISS, E. B.
Insulin and muscle protein. in "Handbook of Physiology" Section 7: Endocrinology, Vol. I Endocrine Pancreas, Section Editors: R. O. Greep, E. B. Astwood, American Phyiological Society, Washington, D.C., 1972, p. 563

25. CHASE, L. R., AURBACH, G. D.
Renal adenyl cyclase: anatomically separate sites for parathyroid hormone and vasopressin.
Science 159, 545 (1968)

26. CHASE, L. R., FEDAK, S. A., AURBACH, G. D.
Activation of skeletal adenyl cyclase by parathyroid hormone in vitro.
Endocrinology 84, 761 (1969)

26 a. CHRISTENSEN, H. N.

A transport serving system for mono- and diamino acids.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 51, 337 (1964)

27. CHRISTENSEN, H. N., CULLEN, A. M.

Effects of non metabolizable analogs on the distribution of amino acids in the rat.
Biochim. Biophys. Acta 150, 237 (1968)

28. CHRISTOPHEL, W., DEETJEN, P.
Mikroperfusionsuntersuchungen zum tubulären Transport von Glycin.
Arch. Ges. Physiol. 297, R 52 (1967)

29. COOKE, H., YOUNG, J. A.

Amino acid transport in the developing chicken kidney. Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 51, 199 (1973)

30. CRAMPTON, R. F., SMYTH, D. H.

The excretion of the enantiomorphs of amino acids.
J. Physiol., London 122, 1 (1953)

31. CRANE, R.K. Hypothesis for mechanism of intestinal active transport of sugars.
Fed. Proc. 21, 891 (1962)

32. CRANE, R.K. Na^+-dependent transport in the intestine and other animal tissue.
Fed. Proc. 24, 1000 (1965)

33. CRAWHALL, J. C., SEGAL, S.

The intracellular cysteine/cystine ratio in kidney cortex.
Biochem. J. 99, 19 c (1966)

34. CRAWHALL, J. C., SEGAL, S.

Intracellular ratio of cystine and cysteine in variuos tissues.
Biochem. J. 105, 891 (1967)

35. CUSHNY, A.R. The secretion of urine.
1st., ed., Longmans, Green & Co., London, 1917

36. CUSWORTH, D. C., DENT, C. E.

Renal clearance of amino acids in normal adults and in patients with aminoaciduria.
Biochem. J. 74, 550 (1960)

37. DEETJEN, P., BOYLAN, J. W.

Glucose reabsorption in rat kidney.
Arch. Ges. Physiol. 299, 19 (1968)

38. DENT, C. E., HEATHCOTE, J. G., JORON, G. E.
The pathogenesis of cystinuria. I. Chromatographic and microbiological studies of the metabolism of sulfur-containing amino acids.
J. Clin. Invest. 33, 1210 (1954)

39. DENT, C. E., SENIOR, B., WALSHE, J. M.
The pathogenesis of cystinuria.
II. Polarographic studies of the metabolism of sulfur-containing amino acids.
J. Clin. Invest. 33, 1216 (1954)

40. DIEDRICH, D. F.
Glucose transport carrier in dog kidney: its concentration and turnover number.
Am. J. Physiol. 117, 248 (1966)

41. DOUSA, T.P. Effect of hormones on cyclic AMP formation in kidney of nonmammalian vertebrates.
Am. J. Physiol. 226, 1193 (1974)

42. DOUSA, T.P., RYCKLIK, I.
The effect of parathyroid hormone on adenyl cyclase in rat kidney.
Biochim. Biophys. Acta 158, 484 (1968)

43. DRUMMOND, K. N., MICHAEL, A. F.
Specifity of the inhibition of tubular phosphate reabsorption by certain amino acids.
Nature 201, 1333 (1964)

44. ELSAS, L. J., ALBRECHT, I., ROSENBERG, L. E.
Insulin stimulation of amino acid uptake in rat diaphragma.
J. Biol. Chem. 243, 1846 (1968)

45. ELSAS, L. J., ROSENBERG, L. E.
Inhibition of amino acid transport in rat kidney cortex by puromycin.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 57, 371 (1967)

46. EVERED, D.F. The excretion of amino acids by the human; a quantitative study with ion-exchange chromatography.
Biochem. J. 62, 416 (1956)

47. EXTON, J. H., ROBISON, G. A., SUTHERLAND, W. E.
Glucagon and cyclic AMP. in "Handbook of Physiology", Section 7: Endocrinology, Vol. I Endocrine Pancreas, Section Editors: R. O. Greep, E. B. Astwood, American Physiological Society, Washington, D.C., 1972, p. 425

48. FAHN, S., KOVAL, G. J., ALBERS, R. W.
Sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase of Electrophorus Electric organ.
J. Biol. Chem. 243, 1993 (1968)

49. FANCONI, G. Die nicht diabetischen Glykosurien und Hyperglycämien des älteren Kindes. Jahrbuch Kinderh. 133, 17 (1931)

50. FANCONI, G. Der nephrotisch-glykosurische Zwergwuchs mit hypophosphatämischer Rachitis. Jahrbuch Kinderh. 147, 299 (1936)

51. FOULKES, E. C.

Effects of heavy metals on renal asparate transport and the nature of solute movement in kidney cortex slices. Biochim. Biophys. Acta 241, 815 (1971)

52. FOX, M., THIER, S., ROSENBERG, L. E., KISER, W., SEGAL, S.

Evidence against a single renal transport defect in cystinuria. New Engl. J. Med. 270, 556 (1964)

53. FOX, M., THIER, S., ROSENBERG, L. E., SEGAL, S.

Ionic requirements for amino acid transport in the rat kidney cortex slices. 1. Influence of extracellular ions. Biochim. Biophys. Acta 79, 167 (1964)

54. FREEDMAN, B., YOUNG, J. A.

Microperfusion study of L-histidine transport by the rat nephron. Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 47, 10 (1969)

55. FUNDER, J. W., FELDMAN, D., EDELMAN, I. S.

Glucocorticoid receptors in rat kidney: the binding of tritiated-dexamethasone. Endocrinology 92, 1005 (1973)

56. GANS, J. H., BAILE, M. D., BIGGS, D.

In vitro metabolism of C-14-labelled amino acids by sheep kidney cortex and medulla. Am. J. Physiol. 211, 249 (1966)

57. GAYER, J., GEROK, W.

Die Lokalisierung der L-Aminosäuren in der Niere durch stop-flow Analysen. Klin. Wschr. 39, 1054 (1961)

58. GENEL, M., REA, C., SEGAL, S.

Transport interaction of sugars and amino acids in mammalian kidney. Biochim. Biophys. Acta 241, 779 (1971)

59. GEROK, W., GAYER, J.

Die tubuläre Rückresorption der L-Aminosäuren in der Niere des Hundes. Transportmaxima und competitive Hemmung.
Klin. Wschr. 39, 540 (1961)

60. GIANOPOULOS, G., HASSAN, Z., SOLOMON, S.

Glucocorticoid receptors in fetal and adult rabbit tissue.
J. Biol. Chem. 249, 2424 (1974)

61. GILBERT, J., KU, Y., ROGERS, L. L., WILLIAMS, R. L.

The inrease in urinary taurine after intraperitoneal administration of amino acids to the mouse.
J. Biol. Chem. 235, 1055 (1960)

62. HARRIS, H., MITTWOCH, V., ROBSON, E. B., WARREN, F. L.

Pattern of amino acid excretion in cystinuria.
Ann. Human Genet. 19, 196 (1955)

63. HEINZ, E., WALSH, P. M.

Exchange diffusion , transport, and intracellular level of amino acids in Ehrlich carcinoma cells.
J. Biol. Chem. 233, 1488 (1958)

64. HERBERT, J. D., COULSON, R. A., HERNANDEZ, T.

Free amino acids in the caiman and rat.
Comp. Biochem. Physiol. 17, 583 (1966)

65. HERTELENDY, F., MACHLIN, L., KIPNIS, D. M.

Further studies on the regulation of insulin and growth hormone secretion in sheep.
Endocrinology 84, 192 (1969)

66. HILLMAN, R. E., ALBRECHT, I., ROSENBERG, L. E.

Transport of amino acids by isolated rabbit renal tubules.
Biochim. Biophys. Acta 150, 528 (1968)

67. HILLMAN, R. E., ALBRECHT, I., ROSENBERG, L. E.

Identification and analysis of multiple glycine transport systems in isolated mammalian renal tubules.
J. Biol. Chem. 243, 5566 (1968)

68. HILLMAN, R. E , ROSENBERG, L. E.

Amino acid transport by isolated mammalian renal tubules. II. Transport systems for L-proline.
J. Biol. Chem. 244, 4494 (1969)

69. HILLMAN, R. E., ROSENBERG, L. E.

Amino acid transport by isolated mammalian renal tubules. III. Binding of L-proline by proximal tubule membranes.
Biochim. Biophys. Acta 211, 318 (1970)

70. HOLTZAPPLE, P., BOVEE, K., REA, C., SEGAL, S.

Amino acid uptake by kidney and jejunal tissue from dogs with cystine stones.
Science 166, 1525 (1969)

71. HOLTZAPPLE, P., REA, C., BOVEE, K., SEGAL, S.

Characteristics of cystine and lysine transport in renal and jejunal tissue from cystinuric dogs.
Metabolism 20, 1016 (1971)

72. JACKSON, J. D., SMITH, F. G., LITTMAN, N. N., YUILE, C. L. LATTA, H.

The Fanconi syndrome with cystinosis.
Am. J. Med. 33, 893 (1962)

73. JACQUEZ, J. A., SHERMAN, J. H.

The effect of metabolic inhibitors on transport and exchange of amino acids in Ehrlich ascites cells.
Biochim. Biophys. Acta 109, 128 (1965)

74. JARRET, I. G., POTTER, B. J.

Insulin tolerance and hypoglycaemic convulsions in sheep.
Austral. J. Exp. Biol. 31, 311 (1953)

75. JEPSON, B. Hartnup disease. in "The metabolic Basic of Inherted Disease", 3rd ed., edited by J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Frederickson. New York, McGraw, 1972, p. 1486

76. JOHNSTON, C. C., BARTLETT, P., PODSIADLY, C. J.

Transport of α-amino-isobutyric acid by separated rabbit renal tubules.
Biochim. Biophys. Acta 163, 418 (1968)

77. JOSEPH, R., RIBIERRE, M., JOB, J. C., GIRAULT, M.

Maladie familiale associent des convulsions, à début très précose, une hyperalbuminorachie et une hyperaminoacidurie.
Arch. Franc.Pédiat. 15, 374 (1958)

78. KAMIN, H., HANDLER, P.

Effect of infusion of single amino acids upon excretion of other amino acids.
Am. J. Physiol. 164, 654 (1951)

79. KIRK, E. Studies on amino acid clearance.
Acta Med. Scand. 5, 450 (1936)

80. KLEINZELLER, A.
The specifity of the active sugar transport in kidney cortex cells.
Biochim. Biophys. Acta 211, 264 (1970)

81. KLEINZELLER, A.
Active sugar transport in renal cortex cells: the electrolyte requirement.
Biochim. Biophys. Acta 211, 277 (1970)

82. KLEINZELLER, A., KOLINSKÁ, J., BENES, I.
Transport of monosaccharides in kidney-cortex cells.
Biochem. J. 104, 852 (1967)

83. LIGNAC, G. O. E.
Über Störung des Cystinstoffwechsels.
Münch. Med. Wschr. 71, 1016 (1924)

84. LORENTZ, W. B. jr.
The effect of cyclic AMP and dibutyryl cyclic AMP on the permeability characteristics of renal tubule.
J. Clin. Invest. 53, 1250 (1974)

85. LOWENSTEIN, L. M., HUMMELER, K., SMITH, I., SEGAL, S.
The effect of storage at 4°C on amino acid transport by rat kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 150, 416 (1968)

86. LOWENSTEIN, L. M., SMITH, I., SEGAL, S.
Aminoacid transport in the rat renal papilla.
Biochim. Biophys. Acta 150, 73 (1968)

87. MALVIN, R. L.
Stop-flow method and its use in studying renal function.
Progr. Cardiovascular Diseases 3, 432 (1961)

88. MARCUS, R., AURBACH, G. D.
Bioassay of parathyroid hormone in vitro with a stable preparation of adenyl cyclase from the rat kidney.
Endocrinology 85, 801 (1969)

89. MEISTER, A. On the enzymology of amino acid transport.
Science 180, 33 (1973)

90. MELSON, G. L., CHASE, L. R., AURBACH, G. D.

Parathyroid hormone-sensitive adenyl cyclase in isolated renal tubules.
Endocrinology 86, 511 (1970)

91. MILNE, M. D., ASATOOR, A., LONGHRIDGE, L. W.

Hartnup disease and cystinuria.
Lancet 1, 51 (1961)

92. MOHYUDDIN, F., SCRIVER, C. R.

Similarity of L-proline transport systems in kidney of the rat in vitro, and of the man in vivo. Biochim. Biophys. Res. Comm 32, 852 (1968)

93. MOHYUDDIN, F., SCRIVER, C. R.

Amino acid transport in mammalian kidney: multiple systems for imino acids and glycine in the rat kidney.
Am. J. Physiol. 219, 1 (1970)

94. MORGAN, H. E., NEELY, J. R.

Insulin and membran transport. in "Handbook of Physiology", Section 7: Endocrinology, Vol. I Endocrine Pancreas, Section Editors: R. O. Greep, E. B. Astwood, American Physiological Society, Washington, D. C. 1972, p. 323

95. NEAME, K.D. Uptake of L-histidine, L-proline, L-tyrosine, and L-ornithine by brain, intestinal mucosa, testis, kidney, spleen, liver, heart muscle, skeletal muscle and erythrocytes of the rat in vivo.
J. Physiol., London 162, 1 (1962)

96. NEAME, K.D. Effect of neutral α- and ω-amino acids and basic α-amino acids on uptake of L-histidine by intestinal mucosa, testis, spleen, and kidney in vitro: a comparison with effect in brain.
J. Physiol., London 185, 627 (1966)

97. O'BRIEN, D., BUTTERFIELD, L. J.

Further studies on renal tubular conservation of free amino acids in early infancy
Arch. Disease Childhood 38, 437 (1963)

98. PHANG, J. M., DOWNING, J. S., WEISS, I. W.

Cyclic AMP stimulation of amino acid uptake in bone and kidney.
Biochim. Biophys. Acta 211, 605 (1970)

99. PITTS, R.F. A renal reabsorptive mechanism in the dog common to glycine and creatine.
Am. J. Physiol. 140, 156 (1943)

100. PITTS, R. F.
A comparison of the renal reabsorptive processes for several amino acids.
Am. J. Physiol. 140, 535 (1944)

101. REA, C., SEGAL, S.
ATP content of rat kidney cortex slices: Relation of α-aminoisobutyric acid uptake.
Kidney Intern. 2, 101 (1972)

102. REISER, S., CHRISTIANSEN, P. A.
Intestinal transport of amino acids as affected by sugars.
Am. J. Physiol. 216, 915 (1969)

103. RODBELL,M. Regulation of glucagon action at its receptors.
in "Glucagon. Molecular Physiology, clinical and therpeutic Implications" edited by P. J. Lefebvre,R. H. Unger, Pergamon Press Oxford, 1972 p. 75

104. ROSENBERG, L. E., ALBRECHT, I., SEGAL, S.
Lysine transport in human kidney: evidence for two systems.
Science 155, 1426 (1967)

105. ROSENBERG, L. E., BERMAN, M., SEGAL, S.
Studies of kinetics of amino acid transport, incorporation into protein and oxidation in kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 71, 664 (1963)

106. ROSENBERG, L. E., BLAIR, A., SEGAL, S.
The transport of amino acids by the rat kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 54, 479 (1961)

107. ROSENBERG, I. H., COLEMAN, A. L., ROSENBERG, L. E.
The role of sodium ionen in the transport of amino acids by intestine.
Biochim. Biophys. Acta 102, 161 (1965)

108. ROSENBERG, L. E., DOWNING, S., SEGAL, S.
Competitive inhibition of dibasic amino acid transport in the rat.
J. Biol. Chem. 237, 2265 (1962)

109. ROUSSEAU, G., BAXTER, J. D., FUNDER, J. W., EDELMAN, I. S., TOMKINS, G. M.
Glucocortcoid and mineralocorticoid receptors for aldosterone.
J. Steroid. Biochem. 3, 219 (1972)

110. RUEDAS, G., WEISS, C.

Die Wirkung von Änderungen der Natriumkonzentration im Perfusionsmedium und von Strophantin auf die Glucoseresorption der isolierten Rattenniere.
Arch. Ges. Physiol. 298, 12 (1968)

111. RUSZKOWSKI, M., ARASINOVICZ, C., KNAPOWSKI, I., STEFFEN, J., WEISS, K.

Renal reabsorption of amino acids.
Am. J. Physiol. 203, 891 (1962)

112. SCHARRER, E., SCHOLL, H., LANDES, C.

Untersuchungen über den renalen Monosaccharid- und Aminosäurentransport bei Lämmern und Schafen (Kurzfassung).
Ztschr. f. Tierphys., Tierernähr., Futtermittelkde. 33, 197 (1974)

113. SCHNEIDER, J. A., SEEGMILLER, J. E.

Cystinosis and Fanconi syndrome. in "Metabolic Basic of Inherited disease", 3rd ed., edited by J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Frederickson, New York, McGraw, 1972 p. 1581

114. SCHULTZ, S. G., FUISZ, R. E., CURRAN, P. F.

Amino acid and sugar transport in the rabbit ileum.
J. Gen. Physiol. 49, 849 (1966)

115. SCHULTZ, S. G., ZALUSKY, R.

Interactions between active sodium transport and active amino-acid transport in isolated rabbit ileum.
Nature 205, 292 (1965)

116. SCHWARTZMAN, L., BLAIR, A., SEGAL, S.

A common renal transport system for lysine, ornithine, arginine and cystine.
Biochim. Biophys. Res. Comm. 23, 220 (1966)

117. SCHWARTZMAN, L., BLAIR, A , SEGAL, S.

Exchange diffusion of dibasic amino acids in rat kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 135, 120 (1967)

118. SCHWARTZMAN, L., BLAIR, A., SEGAL, S.

Effect of transport inhibitors on dibasic amino acid exchange diffusion in rat kidney cortex.
Biochim. Biophys. Acta 135, 136 (1967)

119. SCHWARTZMAN, L., CRAWHALL, J. C., SEGAL, S.

Incorporation of amino acids into lipid fraction of kidney cortex.
Biochim. Biophys. Acta 124, 62 (1966)

120. SCRIVER, C. R.

Hartnup disease. A genetic modification of intestinal and renal transport of certain amino acids.
New Engl. J. Med. 273, 530 (1965)

121. SCRIVER, C. R.

Renal tubular transport of proline, hydroxyproline, and glycine. III. Genetic basis for more than one mode of transport in human kidney.
J. Clin. Invest. 47, 823 (1968)

122. SCRIVER, C. R., DAVIES, E.

Endogenous renal clearance rates of free amino acids in pre-pupertal children (employing an accelerated procedure for elution chromatography of basic amino acids on an ion exchange resin).
Pediatric 36, 592 (1965)

123. SCRIVER, C. R., EFRON, M. L., SCHAFER, I. A.

Renal tubular transport of proline, hydroxyproline, and glycine in health and in familial hyperprolinemia. J. Clin. Invest. 43, 374 (1964)

124. SCRIVER, C. R., GOLDMAN, H.

Renal tubular transport of proline, hydroxyproline and glycine. II. Hydroxy-L-proline as substrate and inhibitor in vivo.
J. Clin. Invest. 45, 1357 (1966)

125. SCRIVER, C. R., MOHYUDDIN, F.

Amino acid transport in kidney: heterogeneity of α-aminoisobutyric uptake.
J. Biol. Chem. 243, 3207 (1968)

126. SCRIVER, C. R., PUESCHEL, S., DAVIES, E.

Hyper-β-alaninemia associated with β-aminoaciduria and γ-aminobutyric-aciduria, somnolence and seizures.
New Engl. J. Med. 274, 635 (1966)

127. SCRIVER, C. R., SCHAFER, I. A., EFRON, M. L.

New renal tubular amino acid transport system and a new hereditary disorder of amino acid metabolism.
Nature 192, 672 (1961)

128. SCRIVER, C. R., WILSON, O. H.

Possible locations for a common gene product in membran transport of imino acids and glycine.
Nature 202, 92 (1964)

129. SCRIVER, R. C., WILSON, O. H.

Amino acid transport: Evidence for genetic control of two types in human kidney.
Science 155, 1428 (1967)

130. SEGAL, S. Tissue transport defects of dibasic amino acids.
Mod. Probl. Pediat 11, 56 (1968)

131. SEGAL, S., CRAWHALL, J. C.

Transport of cysteine by human kidney cortex in vitro.
Biochem. Med. 1, 141 (1967)

132. SEGAL, S., ROSENHAGEN, M.

The effect of extracellular sodium concentration on α-methyl-D-glucoside transport by rat kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 332, 278 (1974)

133. SEGAL, S., ROSENHAGEN, M., REA, C.

Developmental and other characteristics of α-methyl-D-glucoside transport by rat kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 291, 519 (1973)

134. SEGAL, S., REA, C., SMITH, I.

Separate transport systems for sugars and amino acids in developing rat kidney cortex.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 68, 372 (1971)

135. SEGAL, S., SCHWARTZMAN, L., BLAIR, A., BERTOLI, D.

Dibasic amino acid transport in the rat kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 135, 127 (1967)

136. SEGAL, S., SMITH, I.

Delineation of cystine and cysteine transport systems in the rat kidney cortex by developmental pattern.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. 63, 926 (1969)

137. SEGAL, S., SMITH, I.

Delineation of separate transport systems in rat kidney cortex for L-lysine and L-cystine by developmental pattern.
Biochim. Biophys. Res. Comm. 35, 771 (1969)

138. SEGAL, S., SMITH, I., GENEL, M., HOLTZAPPLE, P.
Tubular transport by human kidney stored at 4°C.
Nature 222, 387 (1969)

138a SEGAL, S., THIER, S. O.
Renal handling of amino acids in "Handbook of physiology", Section 8: Renal Physiology Section Editors: J. Orloff, R. W. Berliner American Physiological Society, Washington,D.C. 1973 p. 653

139. SEGAL, S., THIER, S., FOX, M., ROSENBERG, L. E.
Inhibitory effect of sugars on amino acid accumulation by slices of rat kidney cortex.
Biochim. Biophys. Acta 65, 567 (1962)

140. SILBERNAGEL, S., DEETJEN, P.
Mikroperfusionsuntersuchungen zur Resorption von Glycin im proximalen Tubulus.
Pflüg. Arch. Eur. J. Physiol. 312, R 82 (1969)

141. SINGER, S., NICOLSON, G. L.
The fluid mosaic model of the structure of cell membranes.
Science 175, 720 (1972)

142. SOUPART, P. Free amino acids of blood and urine in the human. in "Amino Acid pools", edited by J. J. Holden, Amsterdam, Elsevier, 1962 p. 220

143. STEIN,W.H. Excretion of amino acids in cystinuria.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 78, 705 (1951)

144. STERN, J. S, BAILE, C. A., MEYER, J.
Growth hormone, insulin, and glucose in suckling, weanling and mature ruminants.
J. Dairy Sci. 54, 1052 (1971)

145. STEINER, A. L., PAGLIARA, A. S., CHASE, L. R. KIPNIS, D. M.
Radioimmunoassay for cyclic nucleotides.
J. Biol. Chem. 247, 1114 (1972)

146. THIER, S. O., BLAIR, A., FOX, M., SEGAL, S.
The effect of extracellular sodium on the kinetics of AIB transport in rat kidney cortex slices.
Biochim. Biophys. Acta 135, 300 (1967)

147. THIER, S., FOX, M., ROSENBERG, L. E., SEGAL, S.
Hexose inhibiton of amino acid uptake in rat kidney cortex slice.
Biochim. Biophys. Acta 93, 106 (1964)

148. THIER, S. O., SEGAL, S.
Cystinuria in "The Metabolic Basic of Inherited Disease", 3rd ed., edited by J. B. Stanbury, J. B. Wyngaarden, D. S. Frederickson, New York, McGraw, 1972 p. 1504

149. UMBARGER, B. J., BERRY, H. K., GNEST, G. M.
Amino acid excretion patterns in diabetic children.
Diabetes 12, 443 (1963)

150. WEBBER,W.A. Interactions of neutral and acidic amino acids in renal tubular transport.
Am. J. Physiol. 202, 577 (1962)

151. WEBBER,W.A. Characteristics of acidic amino acid transport in mammalian kidney.
Can. J. Biochem. Physiol. 41, 131 (1963)

152. WEBBER,W.A. Some effects of phlorizin and phloretin on renal amino acid reabsorption in the dog.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 43, 79 (1965)

153. WEBBER,W.A. Renal tubular reabsorption of alpha-amino-isobutyric acid.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 44, 507 (1966)

154. WEBBER,W.A. Amino acid excretion patterns in developing rats.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 45, 867 (1967)

155. WEBBER,W.A. A comparison of the efflux rates of AIB from kidney cortex slices of mature and newborn rats.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 46, 765 (1968)

156. WEBBER,W.A., BROWN, J. L., PITTS, R. F.
Interactions of amino acids in renal tubular transport.
Am. J. Physiol. 200, 380 (1961)

157. WEBBER, W. A., CAIRNS, J. A.
A comparison of the amino acid concentrating ability of the kidney cortex of newborn and mature rats.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 46, 165 (1968)

158. WEBBER, W. A., CAMPELL, J. L.

Effects of amino acids on renal glucose reabsorption in the dog.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 43, 915 (1965)

159. WEISS, I. W., MORGAN, K., PHANG, J. M.

Cyclic adenoside monophosphate-stimulated transport of amino acids in kidney cortex.
J. Biol. Chem. 247, 760 (1972)

160. WHELAN, D. T., SCRIVER, C. R.

Hyperdibasicaminoaciduria: an inherited disorder of amino acid transport.
Pediat. Res. 2, 525 (1968)

161. WRIGHT, L. D., RUSSO, H. F., SKEEGS, H. R., PATCH, E. A., BEYER, K. H.

The renal clearance of essential amino acids: arginine, histidine, lysine and methonine.
Am.J. Physiol. 149, 130 (1947)

162. YEH, H. L., FRANKL, W., DUNN, M. S., PARKER, P. HUGHES, B., GYÖRGY, P.

The urinary excretion of amino acids by a cystinuric subject.
Am. J. Med. Sci. 214, 507 (1947)

163. YOUNG, J. A., EDWARDS, K. D. G.

Clearance and stop-flow studies on histidine and methyldopa transport by rat kidney.
Am. J. Physiol. 210, 667 (1966)

164. YOUNG, J. A., EDWARDS, K. D. G.

Stop-flow analysis of renal tubular function in the rat undergoing osmotic diuresis due to creatinine loading.
Austral. J. Exp. Biol. Med. Sci. 42, 667 (1964)

165. YOUNG, J. A., FREEDMAN, B. S.

Renal tubular transport of amino acids.
Clin. Chem. 17, 245 (1971)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. Erwin Scharrer für die Überlassung des Themas und für seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung sowie für die zahlreichen Anregungen bei der Durchführung meiner Untersuchungen.

Diese Arbeit ist im Sonderforschungsbereich 147 - Jungtierkunde München - entstanden.

LEBENSLAUF

Christian Landes	geb. am 5. 5. 1948 in Lautenbach, Gemeinde Oedheim, Kreis Heilbronn
Eltern	Christian Landes, Landwirt, und Nadjeshda Landes, geb. Nachtigal
April 1955	Eintritt in die Volksschule in Oedheim
April 1959	Eintritt in das Theodor-Heuss-Gymnasium in Heilbronn
Juni 1967	Ablegung der Reifeprüfung
	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München vom Wintersemester 1967/68 bis zum Sommersemester 1972
September 1972	Abschluß des Staatsexamens
November 1972	Bestallung als Tierarzt